

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

---

ANNÉE 1970

---

THÈSE

9

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

par

Jacques YVART

Né le 29 Octobre 1939 à BAPAUME (62)

Interne des Hôpitaux de Paris

---

*Présentée et soutenue publiquement le :* .....

LE SYSTÈME SECRÉTEUR  
ET LES SUBSTANCES DE GROUPES SALIVAIRES

---

Président : Professeur Bernard DREYFUS



F A C U L T E   D E   M E D E C I N E   D E   P A R I S

ANNEE 1970

N°

T H E S E

P O U R   L E

D O C T O R A T   E N   M E D E C I N E

( Diplôme d' Etat )

P A R

Jacques   Y V A R T

Né le 29 Octobre 1939 à Bapaume (62)

Interne des Hôpitaux de Paris

Présentée et soutenue publiquement le :

LE SYSTEME SECRETEUR ET LES SUBSTANCES DE GROUPES SALIVAIRES

Président : Monsieur le Professeur Bernard D R E Y F U S

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1970

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme de Docteur)

PAR

Jacques FAVAT

Né le 23 Octobre 1949 à Bayonne (65)  
Interne des hôpitaux de Paris

Présentée et soutenue publiquement le :



LE SYSTÈME ÉCONOMIQUE ET LES ÉLÉMENTS DE LA THÉORIE DES ÉCHANGES

Président : Monsieur le Professeur Jacques FAVAT

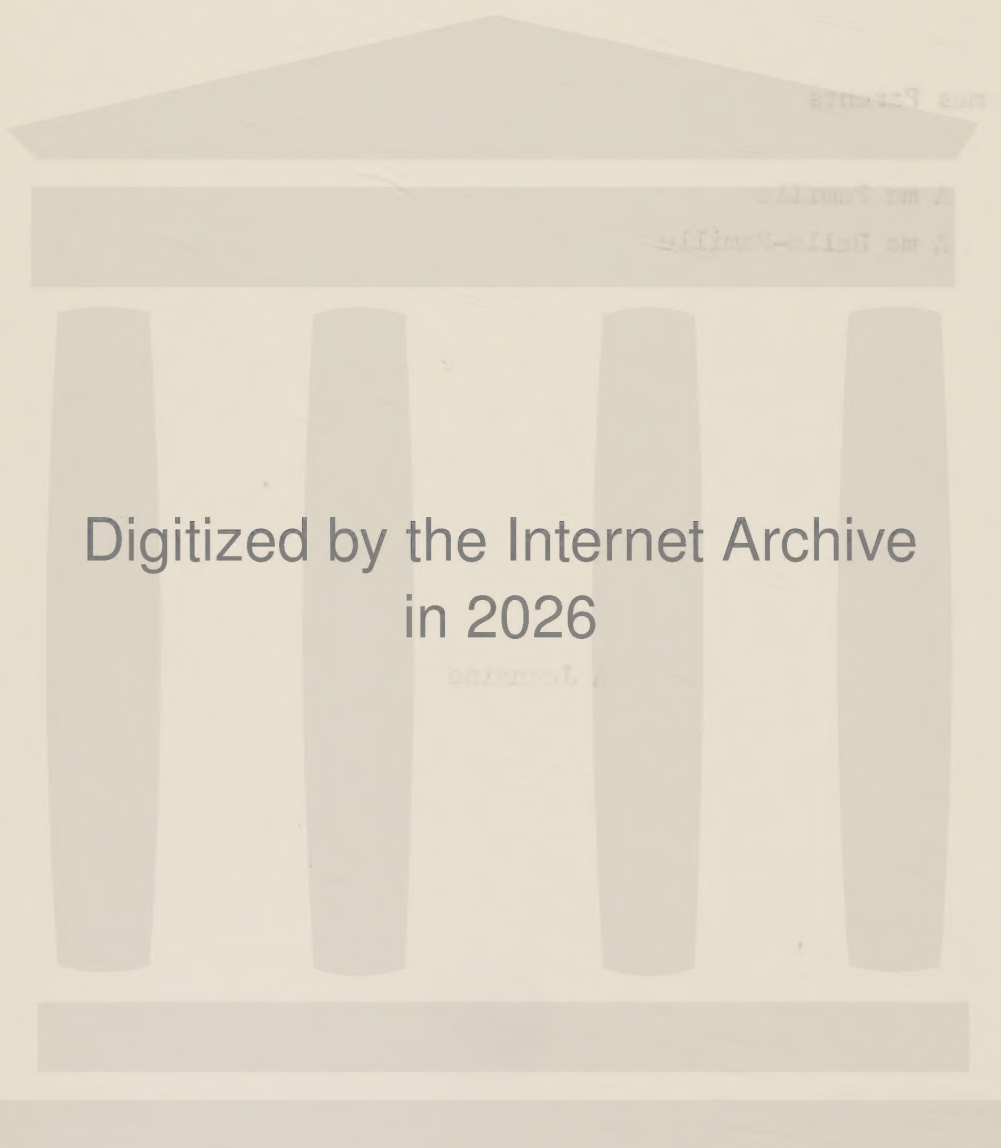
A mes Parents

A ma Famille

A ma Belle-Famille

A Jeannine

A tous mes Amis



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41553014\\_0050](https://archive.org/details/IA41553014_0050)

A mon Maître et Président de Thèse

Monsieur le Professeur Bernard DREYFUS

qui m'a fait le grand honneur d'accepter  
la présidence de cette thèse.

En témoignage de ma sincère gratitude  
et de ma profonde admiration .



A Monsieur le Professeur Agrégé Charles SALMON

qui m'a confié ce travail  
et m'a prodigué un enseignement précieux.

En témoignage de ma profonde gratitude  
et pour la bienveillance qu'il m'a témoignée.



A Monsieur le Docteur Alain GERBAL

qui m'a guidé dans la rédaction de ce travail.

En témoignage de ma reconnaissance pour ses précieux  
conseils et de mon admiration.

A Monsieur le Docteur Patrice MANNONI

qui m'a fait aimé l' Immuno-Hématologie

Qu'il trouve ici mon sincère remerciement  
pour l'accueil qu'il m'a réservé dans son laboratoire.



A Mademoiselle Christine BRACQ

A Mademoiselle G. LIBERGE

A Mademoiselle Cl. MASLET

et à tous les Membres du laboratoire d'Immuno-Hématologie  
appliquée à la Transfusion Sanguine.

Dont la participation technique a été la base de ce travail.

En témoignage de mes remerciements.

A Madame A. MOURIER

Pour sa précieuse collaboration.

A tout le Personnel du service d'Immunologie et du Centre Départemental  
de Transfusion Sanguine de Paris.



A mes Maîtres d' Externat

|                        |              |
|------------------------|--------------|
| Monsieur le Professeur | SEILLE       |
| Monsieur le Professeur | P. ABOULKER  |
| Monsieur le Professeur | VOISIN       |
| Monsieur le Professeur | TRICOT       |
| Monsieur le Professeur | RYCKEWAERT   |
| Monsieur le Professeur | PERRAULT     |
| Monsieur le Professeur | LAGRUE       |
| Monsieur le Professeur | BRICAIRE     |
| Monsieur le Professeur | HAZARD       |
| Monsieur le Professeur | GRENET       |
| Monsieur le Professeur | Jean BERNARD |
| Monsieur le Professeur | LAFITTE      |
| Monsieur le Professeur | FAULON       |

A mes Maîtres d' Internat

|                        |                 |
|------------------------|-----------------|
| Monsieur le Professeur | DAUSSET         |
| Monsieur le Professeur | Jean BERNARD    |
| Monsieur le Professeur | CANIVET         |
| Monsieur le Professeur | H. PEQUIGNOT    |
| Monsieur le Professeur | Bernard DREYFUS |
| Monsieur le Professeur | Jacques DEBRAY  |
| Monsieur le Professeur | ANDRE           |



## I N T R O D U C T I O N

Etudiant , sur le plan quantitatif, les salives de sujets atteints d'hémopathies malignes, il nous a paru intéressant de faire une étude générale sur le Système Sécréteur et les substances de groupes salivaires.

Ce travail est divisé en six chapitres, comportant successivement :

- L'historique des Systèmes Sécréteur et Lewis, la conception de GRUBB et de CEPPELLINI, les données biochimiques actuelles ,

- Les diverses techniques de mise en évidence des substances de groupes salivaires ,

- Les résultats d'une étude quantitative, portant sur 318 salives, permettant de comparer, d'une part, la sécrétion de A chez les sujets  $A_1$  et  $A_2$ , d'autre part, la sécrétion de H chez les sujets O et les sujets non O, enfin, la sécrétion des substances  $Le^a$  et  $Le^b$  selon le groupe ABO et le phénotype salivaire,

- L'étude des substances de groupes salivaires chez les sujets de phénotypes A et B faibles, chez qui cette recherche est fondamentale,

- L'étude de 200 salives provenant de malades atteints d'hémopathies malignes, à la recherche d'anomalies quantitatives parallèles à celles observées au niveau du globule rouge ,

- Enfin, les rapports existant entre les Systèmes Sécréteur et Lewis d'une part, et l'apparition des anticorps anti-Lewis d'autre part.



C H A P I T R E I

HISTORIQUE DU SYSTEME SECRETEUR



## I ) LES FAITS :

Après la découverte, en 1900, des groupes sanguins A B O par LANDSTEINER, les antigènes étaient considérés confinés aux globules rouges. Il a fallu plus de dix ans pour réaliser que ces antigènes ne se limitaient pas strictement aux globules rouges, mais étaient largement distribués dans tout l'organisme.

En 1910, MOSS (44) démontre leur présence dans le sérum. Les antigènes A et B sont ensuite découverts dans de nombreuses sécrétions: sperme, salive (CUBONI 17) en 1928, puis dans les urines, le liquide gastrique, la bile, le lait et les larmes.

Ce n'est qu'en 1930, que LEHRS et PUTKONEN se rendent compte que ce caractère est dimorphique et qu'il existe des sujets sécréteurs de ces antigènes solubles et des sujets non sécréteurs. En 1932, SCHIFF et SASAKI démontrent que cette capacité de sécréter l'antigène A, B ou H dans la salive, se transmet héréditairement comme un caractère mendélien dominant. LEVINE et Coll. (32) dénommeront, en 1955, ces gènes sécréteurs : "Se" et "se".

Entre temps, FRIEDENREICH et HARTMANN (26) vont distinguer les deux formes distinctes d'antigènes :

- Une forme soluble dans l'alcool, présente dans tous les tissus (excepté le cerveau) et sur les hématies, mais absente des sécrétions. Cette forme alcool-soluble n'est pas sous la dépendance du système sécréteur ;

- Une forme hydrosoluble, présente dans la plupart des liquides et organes chez les sujets dits sécréteurs. Cette forme est absente des globules rouges.

Les substances A, B , H ne sont pas les seules qui puissent être mises en évidence dans la salive. On y trouve également les anticorps anti-A et anti-B (21), l'antigène Sd<sup>a</sup> (36), toutes substances dont la présence dans la salive est absolument indépendante du système



sécréteur. On y trouve surtout les substances du système Lewis qui, à l'inverse des précédentes, sont très étroitement associées au phénomène sécréteur.

## II) LE SYSTEME LEWIS :

### a) Les antigènes du système Lewis :

Le système Lewis comprend deux antigènes : Lewis a et Lewis b.

GRUBB en 1948 (23) est le premier à montrer que ces antigènes sont en relation avec le système de sécrétion. En effet, il constate que les sujets dont le phénotype érythrocytaire est Le(a+) sont non sécréteurs des substances A B H.

Par contre, d'une analyse de 1000 échantillons de sang et de salive, provenant de sujets pris au hasard, GRUBB (24) conclut que les gènes sécréteurs et Lewis ne sont pas liés. En outre, il démontre que les gènes commandant la synthèse des substances Lewis a et Lewis b ne peuvent être des gènes allèles : en effet, la substance Lewis a est sécrétée, non seulement par les sujets Le (a+b-), mais aussi, pratiquement, par tous les sujets Le (a-b+), c'est-à-dire à peu près 90 % de la population.

En 1955, CEPPELLINI et SINISCALCO (14 et 15) confirment l'observation fondamentale de GRUBB (24) : la présence de la substance Lewis a dans la salive est indépendante des gènes ABO et sécréteurs. Par contre, ces deux auteurs vont modifier un point important de la théorie de GRUBB : le caractère Lewis b n'est pas dû à un gène  $Le^b$ , comme le suggérait GRUBB, mais il doit être considéré comme le produit d'une interaction entre les gènes sécréteurs Se et H et le gène  $Le^a$ .

Ainsi étaient nés les allèles du système Lewis : "Le" pour le gène dominant et "le" pour le gène amorphe, silencieux.

b) Le système Lewis est un système de mucopolysaccharides solubles (GRUBB 24).



Les antigènes Lewis des globules rouges ne peuvent être considérés comme étant directement et génétiquement déterminés, mais comme étant acquis passivement à partir des antigènes solubles du plasma. Ce concept est appuyé par des faits *in vitro* et *in vivo*.

### 1°) Les faits in vitro :

- GRUBB (24) a réussi à enlever l'antigène Lewis a des globules rouges Le (a+) par des lavages successifs (certains auteurs n'ont pu confirmer ce fait - tout dépend sans doute du sérum anti-Lewis a utilisé pour détecter cette élimination).

- Par des tests d'inhibition, BRENDAMOEN (11 et 12) a observé que le sérum des sujets dont les globules rouges sont Le(a+) contient la substance Le<sup>a</sup>, alors que le sérum des sujets Le (a-) ne la contient pas. La même observation a été faite, séparément, par GRUBB et MORGAN.

- SNEATH et SNEATH (59), en 1955, ont fait cette observation importante que, si des hématies ne possédant pas Le<sup>a</sup> et Le<sup>b</sup> sont mises dans un plasma contenant Le<sup>a</sup> ou Le<sup>b</sup>, elles "prennent ces antigènes à bord". MAKELA et MAKELA (38) ont reproduit la partie Le<sup>b</sup> de l'expérience de SNEATH et SNEATH, et ont confirmé ces résultats. De ce point de vue, les antigènes Lewis se comportent comme l'antigène J des bovidés et l'antigène R des moutons.

### 2°) Les faits in vivo :

- Le phénomène d'adsorption de substance Lewis sur le globule rouge a été observé *in vivo* lorsque le sang d'un donneur Le (a+b-) a été transfusé à un malade Le (a-b+) : dans un échantillon post-transfusionnel du sang du malade, on a récupéré les globules du donneur (par agglutination Rh différentielle) et on a trouvé qu'ils étaient devenus Le (a+b+). Ce phénomène a pu être reproduit *in vitro* (RACE et SANGER 48).



- Enfin, NICHOLAS, JENKINS et MARSH (46) rapportent le cas de jumeaux chimères, résultant d'une greffe de tissu embryonnaire hématopoïétique, où, contrairement aux autres phénotypes érythrocytaires, le phénotype Lewis est celui qui correspond uniquement aux substances plasmatiques de l'hôte.

c) Les anticorps du système Lewis :

Il s'agit essentiellement des anticorps anti-Le<sup>a</sup>, anti-Le<sup>b</sup> et anti-Le<sup>x</sup>.

1°) L'anti-Le<sup>a</sup> fut décrit pour la première fois, en 1946, par MOURANT (45). C'est un anticorps en règle naturel, donnant une meilleure réaction à des températures inférieures à 37°C. La plupart des sérums anti-Le<sup>a</sup> contiennent un peu d'anti-Le<sup>b</sup> faible. Selon certains auteurs, l'utilisation de la papaïne améliorerait la réaction de nombreux réactifs anti-Lewis.

2°) L'anti-Le<sup>b</sup> fut découvert en 1948 par ANDRESEN (3). Il existe en fait deux formes de sérum anti-Le<sup>b</sup>, que CEPPELLINI a dénommé : anti-Le<sup>bL</sup> et anti-Le<sup>bH</sup>.

Ces deux réactifs donnent des réactions identiques avec les globules rouges O et A<sub>2</sub>, mais ces réactions diffèrent si l'on utilise des hématies A<sub>1</sub> :

- l'anti-Le<sup>bH</sup> donne des réactions négatives ou faiblement positives avec la plupart des hématies A<sub>1</sub>, réactions probablement occasionnées par un effet d'épistase du gène A<sub>1</sub> sur le développement, au niveau du globule rouge, du caractère Le<sup>b</sup> (3). Cet anti-Le<sup>bH</sup> est inhibé par la salive des sécréteurs Le (a-b-) (24). Il se comporte comme un réactif voisin de l'anti-H.

- L'anti-Le<sup>bL</sup>, décrit pour la première fois par BRENDENMOEN (11), réagit spécifiquement avec toutes les cellules Le (b+) et ce quelque soit le phénotype érythrocytaire ABO. Cet anti-Le<sup>bL</sup> est seulement



inhibé par la salive des sujets Le (a-b+) (qui contient à la fois la substance Lewis a et la substance Lewis b). Il peut avoir des réactions croisées avec la substance soluble Lewis a des salives Le (a+b-) (41). Il peut donc être considéré comme le véritable anti-Le<sup>b</sup> (25).

3°) L'anti-Le<sup>x</sup>, décrit par ANDRESEN et JORDAL en 1949 (4), donne une réaction croisée avec les déterminants Le<sup>a</sup> et Le<sup>b</sup>. Comme le suggère ANDERSEN (1), l'anti-Le<sup>x</sup> représente un groupe hétérogène, agglutinant toutes les hématies Le (a+b-) et Le (a-b+), ceci en dehors de tout phénomène d'épistase et pouvant agglutiner aussi bien les globules rouges des nouveau-nés que ceux des adultes. Il paraît raisonnable de considérer l'anti-Le<sup>x</sup> comme le véritable anticorps anti-Le<sup>a</sup>, agglutinant les globules rouges de tous les sujets porteurs du gène "Le".

Le tableau suivant ( Tableau n° 1 ), emprunté à RACE et SANGER (48) résume ces faits :

T A B L E A U      N° 1

| Génotype                                         | Phénotype<br>érythrocytai-<br>re | Substances ABH<br>dans la sali-<br>ve | Réactions de la salive avec |                      |                       |                      |
|--------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
|                                                  |                                  |                                       | anti-Le <sup>a</sup>        | anti-Le <sup>b</sup> | anti-Le <sup>DH</sup> | anti-Le <sup>x</sup> |
| LeLe SeSe<br>Lele SeSe<br>LeLe Sese<br>Lele Sese | Le (a-b+)                        | +                                     | +                           | +                    | +                     | +                    |
| LeLe sese<br>Lele sese                           | Le (a+b-)                        | -                                     | +                           | -                    | -                     | +                    |
| lele SeSe<br>lele Sese                           | Le (a-b-)                        | +                                     | -                           | -                    | +                     | -                    |
| lele sese                                        | Le (a-b-)                        | -                                     | -                           | -                    | -                     | -                    |



### III) LA CONCEPTION DE GRUBB (24) et CEPPELLINI (14)

a) La spécificité  $Le^a$ , dans la salive, se transmet comme un caractère mendélien dominant. La présence ou l'absence de substance  $Le^a$  dans la salive est sous le contrôle de 2 gènes allèles, respectivement "Le" et "le".

Le locus  $Le^e$  n'est pas lié, génétiquement, au locus Sese, ni au locus ABO. Les gènes indépendants, Se, H et Le, lorsqu'ils sont présents simultanément, produisent un effet phénotypique supplémentaire : la substance  $Le^b$  (inhibant l'anti- $Le^{bl}$ ).

b) Quand le gène Le (déterminant la formation de substance Lewis a) est présent :

- si le gène Se est également présent, on aura la formation de substances ABH,  $Le^a$  et  $Le^b$ ,

- seulement la substance  $Le^a$  si le gène Se est absent.

Lorsque le gène Le est absent :

- absence de substance  $Le^a$  et présence de substance ABH si le gène Se est présent ;

- si le gène Se est absent : absence de ABH et de  $Le^a$ .

Dans ce dernier cas, seule est présente la substance précurseur, de spécificité pneumocoque XIV.

Ainsi sont expliqués les quatre phénotypes salivaires :

I = ni A B H, ni  $Le^a$ , ni  $Le^b$

II =  $Le^a$

III = A B H

IV = A B H,  $Le^a$ ,  $Le^b$ .

c) Les phénotypes érythrocytaires ne sont que secondaires à ces phénotypes salivaires :

- Les sujets de phénotypes salivaires I et III seront de phénotype érythrocytaire Le (a-b-), non agglutinables par l'anti- $Le^x$ ,



- Les sujets de phénotype salivaire II seront de phénotype érythrocytaire Le (a+b-). Ces sujets possèdent une quantité suffisante de substance  $Le^a$ , la quantité absorbée sur le globule rouge étant décelable par l'anti- $Le^a$  et l'anti- $Le^x$  ;

- Enfin, les sujets de phénotype salivaire IV ne peuvent fixer une quantité suffisante de substance  $Le^a$  qui puisse être décelée par l'anti- $Le^a$ , mais ils fixent la substance  $Le^b$ . Ils seront donc de phénotype érythrocytaire Le (a-b+), mais leurs hématies seront agglutinées par l'anti- $Le^x$ .

Les deux schémas suivants ( Tableaux n° 2 et 3 ), fondés sur les éléments sérologiques, génétiques et biochimiques, résument la conception de GRUBB et CEPPELLINI . Cette conception a un double intérêt : non seulement, elle introduit la notion d'action coordonnée de gènes indépendants, mais de plus, elle est en parfait accord avec les données biochimiques élaborées par MORGAN (43) , WATKINS (65, 66, 68) et KABAT (28).



T A B L E A U N° 2

|     | S A L I V E                                                                                                                                                                                | HEMATIES  | SUJETS            | FREQUENCE |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-------------------|-----------|
| I   | <p>XIV</p>  <p>Ni Le<sup>a</sup> ni Le<sup>b</sup><br/>Ni H ni A ou B</p>                               | Le (a-b-) | Non<br>sécréteurs | 1 %       |
| II  | <p>Le<sup>a</sup> XIV</p>  <p>Ni Le<sup>b</sup> ni H<br/>Ni A ou B</p>                                  | Le (a+b-) | Non<br>sécréteurs | 20 %      |
| III | <p>A/B H XIV</p>  <p>Ni Le<sup>a</sup> ni Le<sup>b</sup></p>                                           | Le (a-b-) | sécréteurs<br>ABH | 9 %       |
| IV  | <p>A/B H Le<sup>b</sup> Le<sup>a</sup> XIV</p>  <p>Le<sup>a</sup> - Le<sup>b</sup><br/>H - A ou B</p> | Le (a-b+) | sécréteurs<br>ABH | 70 %      |



TABLEAU N° 3





#### IV) LES SYNTHÈSES DANS LA CELLULE MUQUEUSE DES GLANDES SALIVAIRES

a) L'étude biochimique des antigènes de groupes sanguins ABH,  $Le^a$  et  $Le^b$ , a été facilitée car ces antigènes existent sous forme hydrosoluble dans les sécrétions comme la salive, le suc gastrique ou l'urine. Au début de ses travaux, MORGAN (43) a eu l'idée d'examiner le liquide contenu dans les kystes mucoïdes de l'ovaire car le volume de ce liquide peut atteindre quelques litres, et il est alors possible d'obtenir d'assez grandes quantités de substance active sous une forme relativement pure : ce sont des mucopolysaccharides, c'est-à-dire des macromolécules comportant une fraction protéinique et une fraction glucidique qui, comme nous le verrons, porte la spécificité immunologique.

Les sujets qui possèdent le gène Se sont dits "sécréteurs" de substance A, B ou H ; ceux qui sont sésé sont dits "non sécréteurs".

La sécrétion de H est sous la dépendance d'un système de gènes indépendants Hh. La sécrétion de  $Le^a$  est sous la dépendance d'un système de gènes indépendants Le le. Quant à  $Le^b$ , il apparaît comme le produit de l'interaction des gènes H et Le.

Ainsi, les schémas, actuellement proposés pour la biosynthèse de ces substances, ont tous été établis à partir de l'analyse biochimique des substances hydrosolubles.

b) Les expériences de dégradation enzymatique progressive par enzymes glucidolytiques des macromolécules :

ont apporté des renseignements du plus grand intérêt, car la libération par hydrolyse enzymatique des sucres terminaux a fait apparaître une spécificité nouvelle, le sucre libéré étant alors identifié comme responsable de la spécificité perdue. L'ordre dans lequel les sucres simples devaient être successivement adjoints à la macromolécule, dans la synthèse in vivo, a pu ainsi être établi.

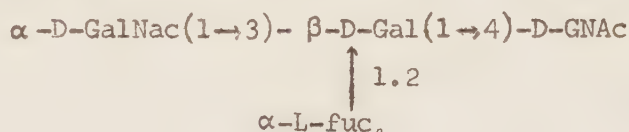
Selon ces expériences, les substances A et B étaient transformées en une substance ayant une activité H par la libération de N-acétylgalactosamine et de galactose respectivement. La substance à activité H était alors transformée en une substance à spécificité  $Le^a$  par la



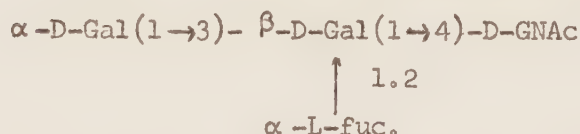
libération de L-fucose. Enfin, le matériel à activité  $Le^a$ , par l'action d'une autre enzyme, perdait sa spécificité  $Le^a$  et réagissait fortement avec l'antisérum de type pneumococque XIV.

Cette molécule terminale est considérée comme étant la molécule "précurseur" à laquelle les unités de sucre se sont jointes pour construire les structures spécifiques de groupe sanguin.

Les fragments de la macromolécule responsable de la spécificité ont pu effectivement être obtenus, par dégradation alcaline cette fois, à partir des substances de groupes sanguins. Ainsi, la substance A apparaît comme un tétrasaccharide:



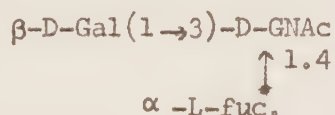
De même, la substance B apparaît comme un tétrasaccharide:



A partir de la substance H purifiée, provenant des sujets sécréteurs de groupe O, deux trisaccharides ont été isolés :



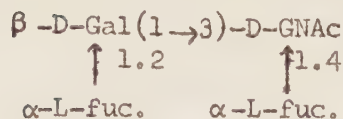
La substance  $Le^a$  des sujets non sécréteurs de substance ABH paraît être un trisaccharide :



Le trisaccharide contenant des unités en liaison (1→4) ne peut pas donner d'activité  $Le^a$ , probablement parce que la position C 4 de la N-acétyl-glucosamine est occupée, ce qui rend impossible la substitution par un fucose.



La spécificité  $Le^b$  est liée au tétrasaccharide :



Ces analyses biochimiques permettent d'imaginer une voie de synthèse relativement claire des substances solubles de groupes sanguins sous l'action des divers gènes spécifiques.

c) La substance de base que nous possédons tous est le dissaccharide  $\beta$ -galactose-N-acétylglucosamine, en liaison (1-3) ou (1-4). C'est sur ce substrat que vont agir les enzymes produites par les gènes  $Le^a$ , H (et Se), A et B.

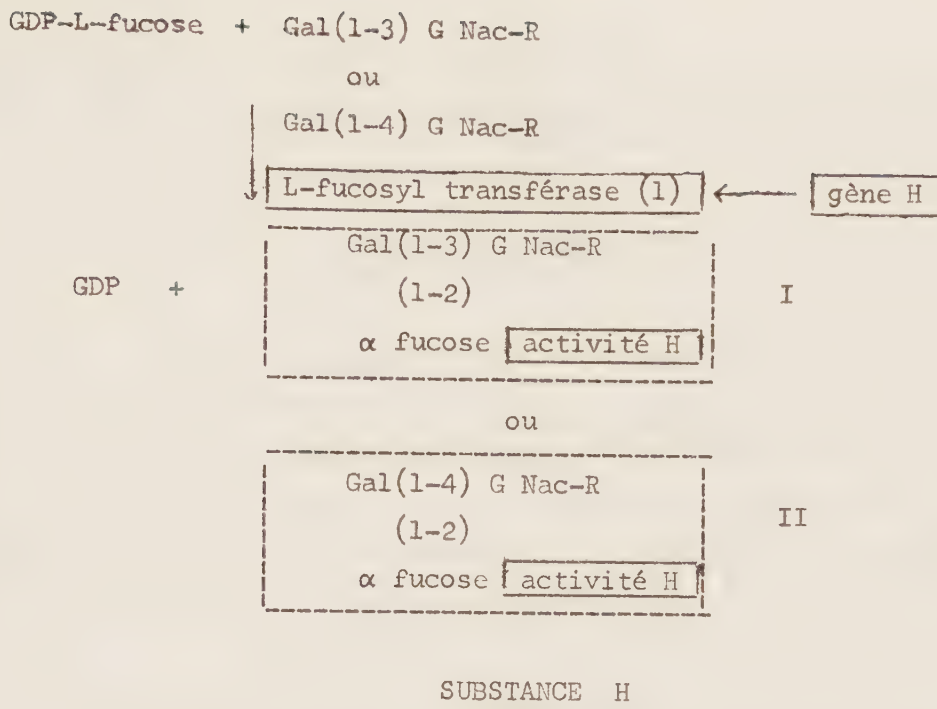
Les produits primaires des gènes H et Le seraient donc des L-fucosyltransférases avec des besoins de substrat "accepteur" différents ; la transférase spécifiée par le gène H amène le fucose en position 2 du galactose, tandis que la transférase spécifiée par Le attache le fucose à la position 4 de la N-acétylglucosamine. Les gènes A et B au locus ABO spécifieraient une  $\alpha$ -N-acétyl-D-galactosaminyl et une  $\alpha$ -D-galactosyl transférase respectivement, qui attachent les sucres appropriés en liaison (1-3) à l'unité de  $\beta$ -galactosyl dans une structure ayant une activité H. Les produits enzymatiques des gènes allèles A et B doivent donc avoir des besoins en substrat accepteur identiques.

MORGAN et WATKINS (68) ont proposé les schémas suivants pour expliquer la synthèse des différentes substances de groupes sanguins A, B, H,  $Le^a$  et  $Le^b$ .

La formation de la structure ayant une activité H se produit comme il est montré sur la figure ci-dessous :

.../...





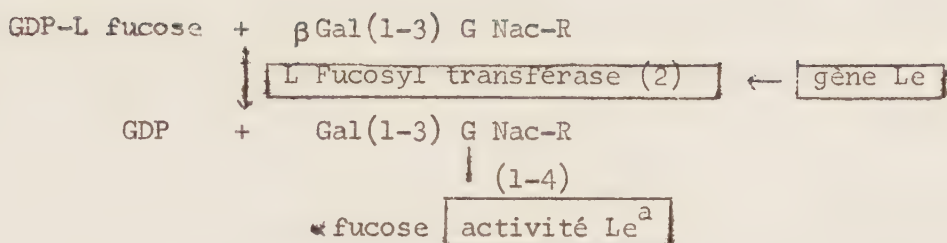
L'  $\alpha$ L-fucosyl transférase produit du gène H, transfère un radical  $\alpha$  L-fucose du guanoside-diphosphate fucose à la position  $C_2$  du galactose terminal sur l'une ou l'autre chaîne du substrat précurseur.

Ce même sucre nucléoside diphosphate (GDP) est considéré comme étant le donneur d'  $\alpha$ L-fucose pour l'enzyme produite par le gène Le. Mais ici, l'  $\alpha$  L-fucosyl transférase fixe le radical  $\alpha$ L-fucose à la position  $C_4$  du N acétyl glucosamine. Or nous avons vu, plus haut, que 2 types de chaînes étaient proposés pour la substance de base, différant par la liaison entre le galactose et N-acétyl-glucosamine 1-3 et 1-4 .

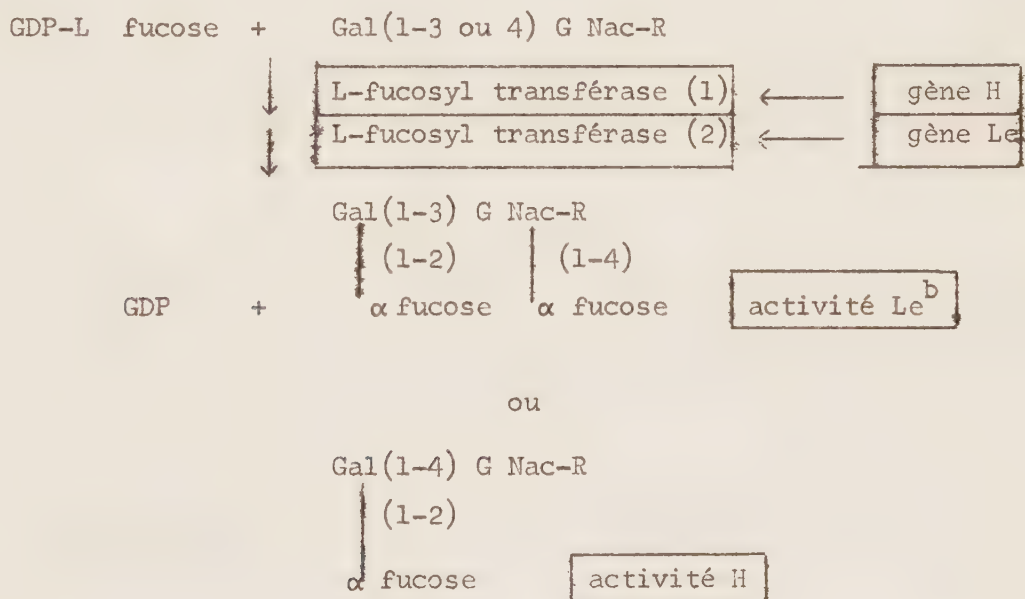
Ainsi ce deuxième type de chaîne ne peut pas convenir à l'action de l'enzyme produite par le gène Le, car la position  $C_4$  étant déjà bloquée, l'  $\alpha$  L-fucosyl transférase ne peut pas fixer le  $\alpha$ L-fucose au  $C_4$  de la N-acétyl-glucosamine.

Ainsi, les chaînes de type II ne pourront pas être utilisées ; elles conservent la réactivité Pneumococque XIV qui est assez forte dans les substances Le<sup>a</sup> comme l'a montré MORGAN en 1960.



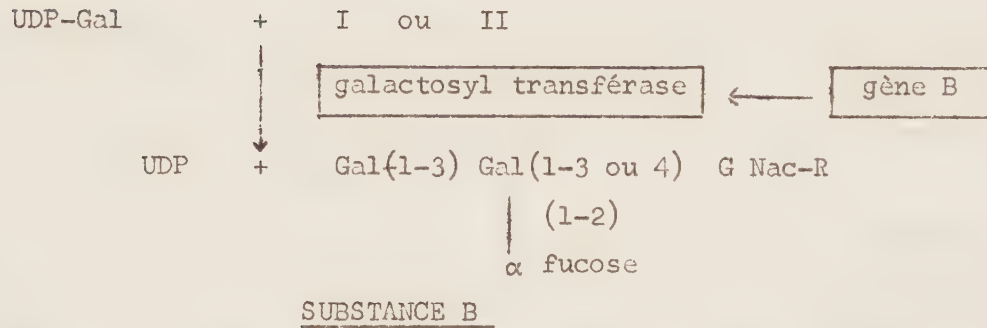
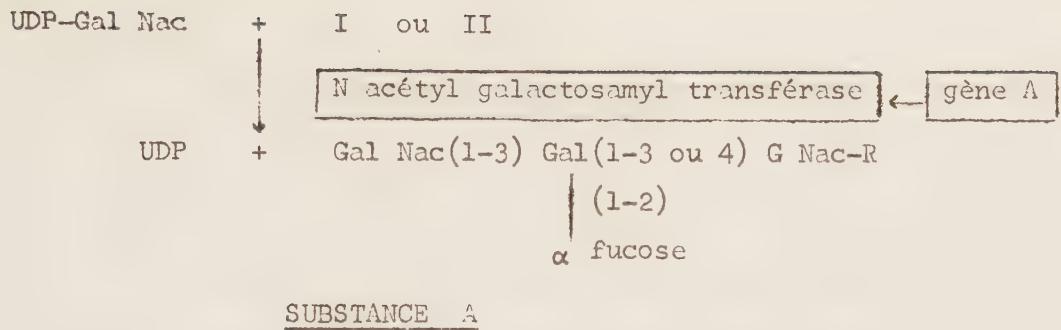


Quand les gènes H et Le sont présents, les deux  $\alpha$ L fucosyl transférases fixent les radicaux  $\alpha$  L fucose en position 1-2 et 1-4 sur les chaînes de type I (Gal(1-3) Nac Gluc), produisant une structure à activité  $\text{Le}^b$ . Par contre, les chaînes de type II ne fixent que 1'  $\alpha$ L fucose en position 1-2 sur le galactose produisant une structure à activité H. Ainsi dans ce cas, il y a coexistence de structure à activité  $\text{Le}^b$  et H.



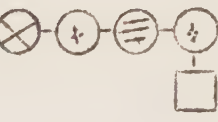
Les figures suivantes montrent le mode de formation des chaînes à activité A et B. Ici la N acétyl galactosamine ou le D galactose sont transférés à partir d'une uridine diphosphate à activité H, en position  $C_3$ . Les deux types de chaînes sont utilisés.





Ces différents schémas ont été représentés par ZAHLER (71) sous la forme simplifiée suivante (Tableau n° 4) :

T A B L E A U N° 4

| Substances de groupes hydrosolubles                                                            | groupes sanguins | Substances de groupes hydrosolubles                                                             | groupes sanguins |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| protéine -  | A                | protéine -  | Le <sup>b</sup>  |
| protéine -  | B                | protéine -  | XIV              |
| protéine -  | H                |                                                                                                 |                  |
| protéine -  | Le <sup>a</sup>  |                                                                                                 |                  |

 fucose  
 glucose  
 N acétyl glucosamine  
 galactose  
 N acétyl galactosamine

.../...



d) Cas des phénotypes Bombay :

Dans tout ce qui précède, nous avons supposé présent le gène H. Dans les très rares cas de phénotypes Bombay, ce gène est absent et tout s'arrête à son niveau d'activité, c'est-à-dire que ni le gène Se, ni les gènes A et B, même s'ils sont présents dans le génome, ne peuvent fonctionner. Deux possibilités sont alors offertes :

- ou bien, et c'est le cas le plus fréquent, le gène Le est présent : les sujets synthétiseront la substance  $Le^a$  et elle seule ;

- ou bien, le gène Le est absent de leur génome, et ils ne produiront que le disaccharide de base.

De toute façon, les gènes ultérieurs ne pourront agir mais ils seront transmis à la descendance et on pourra retrouver leur activité par exemple par l'apport de gènes H et Se de l'autre conjoint ; un enfant d'un sujet Bombay pourra exprimer des substances H ou A ou B éventuellement .



CHAPITRE II

MISE EN EVIDENCE DE LA SECRETION SALIVAIRE DES SUBSTANCES  
DE GROUPES SANGUINS



## A - METHODES

Plusieurs méthodes sont employées pour la mise en évidence de la sécrétion salivaire des substances de groupes ; toutes sont basées sur l'inhibition de l'anticorps homologue.

Nous verrons successivement :

- le prélèvement et la conservation des échantillons de salive,
- le principe de la méthode,
- la provenance des anticorps,
- le titrage des sérums-tests,
- la mise en évidence des substances salivaires,
- les exemples de résultats,
- les variantes de la technique classique,
- les autres techniques.

### I) Prélèvement et conservation des échantillons de salive :

Le prélèvement de salive s'effectue après rinçage de la bouche à l'eau ; on demande au sujet de saliver et de rejeter sa salive dans un tube à essai ( environ 5 ml ).

Chez les très jeunes enfants, un très petit tampon de coton hydrophile tenu dans une pince de Spencer-Wells, est utilisé commodément pour absorber la salive de la bouche. Ce tampon humecté est ensuite pressé avec la pince, et les gouttes sont recueillies dans un tube propre (48).

Les échantillons de salive sont immédiatement chauffés dans un bain-marie à ébullition, pendant 10 minutes, de manière à détruire les enzymes qui pourraient hydrolyser les mucopolysaccharides.

Les échantillons de salive bouillie sont ensuite centrifugés à grande vitesse ( 3 000 tours/minute ) pendant 15 minutes, de manière à obtenir un surnageant clair qui est transvasé à la pipette dans un tube de Kahn. Les échantillons sont alors conservés à -20°C jusqu'au



moment de l'examen.

## II) Principe de la méthode :

La recherche des substances spécifiques solubles est basée sur l'inhibition de l'anticorps homologue par le produit biologique où l'on recherche la substance.

L'antigène salivaire soluble se combinant avec l'anticorps spécifique, n'entraîne aucune réaction directement visible. L'addition d'hématies-tests comportant l'antigène correspondant à l'anticorps étudié peut révéler que ce dernier s'est combiné avec l'antigène hydrosoluble salivaire, et est alors incapable de produire l'agglutination attendue.

La réaction d'inhibition consiste à mettre en présence de l'anticorps choisi des dilutions progressivement décroissantes de salive, c'est-à-dire des concentrations progressivement décroissantes de la substance recherchée.

Si celle-ci n'est pas présente dans la salive, il n'y aura aucune inhibition de l'anticorps ; si elle est présente, il y aura une inhibition à partir du tube initial, jusqu'à une certaine concentration.

Dans un second temps, on teste cette inhibition, en mettant en présence des divers tubes contenant le mélange sérum-salive, les hématies-tests choisies comme réactifs. La zone d'inhibition indique la quantité de substance présente dans la salive.

## III) Provenance des anticorps :

- Les sérums anti-A et anti-B sont des sérums du C.D.T.S.
- L'anti-H le plus approprié pour cette étude est fourni par les extraits salins des graines d' *Ulex Europaeus* (13).
- Les anti-Lewis proviennent de deux donneurs du C.D.T.S.; l'anti-Le<sup>b</sup> étant un anti-Le<sup>bH</sup>.



Ces cinq lots d'anticorps, après titrage, et pour éviter au maximum toute modification d'activité par décongélation-congélation successives, sont répartis en petites fractions dans de petites bouteilles ou ampoules, et conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à leur utilisation.

Les diverses fractions des sérums-tests seront décongelées juste avant l'examen et l'excédent non utilisé ne sera pas réemployé pour cette étude.

#### IV) Titration des sérums-tests :

Les sérums-tests anti-Lewis sont utilisés purs, à raison de 2 gouttes par microtubes. L'anticorps anti-A sera testé contre des hématies  $A_2$  et non  $A_1$ , ces dernières étant plus agglutinables et moins sensibles dans les tests d'inhibition. L'anticorps anti-B sera testé contre des hématies B, et l'anti-H contre des globules rouges O.

Dans la mesure du possible, et pour éviter toute variation, les globules rouges utilisés dans le titrage seront ceux employés pour la mise en évidence de l'inhibition salivaire.

Le titrage se fait d'une manière classique, par dilutions géométriques (du  $1/2$  au  $1/1000$ ).

Chaque échantillon est distribué à raison d'une goutte dans chacun des microtubes Rhésus, en partant de la dilution la plus élevée ( $1/1000$ ), pour aboutir à la dilution au  $1/2$ .

On ajoute, pour chacun des trois titrages (A, B et H), respectivement une goutte de globules rouges  $A_2$ , B et O, lavés, à 2% en saline.

Ce mélange est laissé 1 heure 30 à  $22^{\circ}\text{C}$ .

La lecture se fait au microscope après étalement sur lame. Ainsi, dans notre expérience, nous avons trouvé (Tableau n° 1) :

TABLEAU N°1

| Dilutions     | 2   | 4   | 8   | 16  | 32 | 64 | 128 | 250 | 500 | 1 000 |
|---------------|-----|-----|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|-------|
| avec l'anti-A | +++ | +++ | +++ | ++  | +  | +  | -   | -   | -   | -     |
| avec l'anti-B | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | +   | -   | -   | -     |
| avec l'anti-H | +++ | +++ | +++ | ++  | ++ | +  | +   | -   | -   | -     |



La dilution choisie d'anti-A, d'anti-B et d'Ulex est celle qui précède immédiatement la dernière dilution qui donne une bonne agglutination macroscopique dans les titrages avec les hématies-tests.

Nous avons donc utilisé les sérums-tests :

- . anti-A et anti-H au 1/8 ème,
- . anti-B au 1/16 ème.

Ce titrage a été refait à intervalle réguliers pour vérifier la constance d'avidité de ces 3 lots de sérums.

#### V) Mise en évidence des substances salivaires :

a) La salive, décongelée à la température ambiante, est préparée en une série de dilutions mères, dilutions également géométriques :

- . 12 dilutions pour les substances hydrosolubles A,B et H ( à partir du 1/4 jusqu'au 1/3000) ;
- . 15 dilutions pour les substances Lewis (du 1/4 au 1/64 000).

Il est en effet inutile de dépasser ces seuils de dilution, l'inhibition devenant nulle, en règle générale, bien avant ces dilutions extrêmes.

On a ainsi 5 rangées de tubes :

- . 3 rangées de 12 microtubes Rhésus pour A, B et H,
- . 1 rangée de 15 microtubes Rhésus pour Lewis<sup>a</sup>,
- . 1 rangée de 15 tubes de Kahn pour Lewis<sup>b</sup>.

En effet, dans notre expérience, le sérum-test anti-Le<sup>bH</sup> ne donne de réactions satisfaisantes qu'en utilisant la technique de Coombs sur hématies trypsinées.

b) On distribue ainsi chaque dilution-mère en partant du 15 ème tube (ou du 12 ème tube) vers le 1er, dans chacune des 5 séries de tubes contenant le sérum dilué, à dose constante, à volume égal (1 goutte de salive diluée plus 1 goutte de sérum à dilution adéquate). Rappelons que pour les sérums anti-Lewis, 2 gouttes de réactif pur sont nécessaires.



Ces mélanges, à parties égales de même volume de sérum, avec des concentrations décroissantes de salive, sont laissés 1 heure à 22°C.

Entre chaque distribution, la pipette n'est pas lavée mais séchée.

c) Après cette heure d'inhibition, on ajoute respectivement 1 goutte de globules rouges  $A_2$  (et non  $A_1$  pour les mêmes raisons que précédemment), B et O, tous à 2%, en saline.

Pour la mise en évidence de la substance Lewis<sup>a</sup>, on utilise des hématies O Le(a+b-) trypsinées, à 2% en eau physiologique ; pour la substance Lewis<sup>b</sup>, des hématies O Le'(a-b+), trypsinées, à 5 % en eau physiologique.

Ces mélanges sont laissés 1 heure 30 à 22°C, sauf pour la série des tubes de Kahn, contenant l'anti-Le<sup>bH</sup>, qui est mise en incubation à 37°C pendant 1 heure. Après cette incubation, cette série est lavée 3 fois en saline, étalée sur plaque avec 1 goutte d'une anti-globuline de l' Institut Pasteur de Paris ( à prédominance anti-C'<sub>3</sub>C'<sub>4</sub> ).

Les 4 autres séries sont lues au microscope après étalement sur lame, en commençant par la dilution la moins forte, jusqu'à la dilution la plus forte.

Si la substance salivaire soluble est présente, on observe d'abord des réactions négatives puis apparaissent peu à peu des réactions de plus en plus fortement positives, jusqu'à égalité de celle du tube témoin.

d) Les témoins :

Il est fait un témoin de chaque réactif, c'est-à-dire 5, remplaçant la goutte de salive diluée par une goutte d'eau physiologique.

Telle est la technique utilisée dans ce laboratoire.



B - MATERIEL

Par ces techniques , nous avons étudié :

- 159 familles dont l'origine était double : pour une part, il s'agissait de donneurs de sang sélectionnés pour le panel, pour l'autre part de parents d'enfants ayant une anomalie chromosomique, et alors étudiés dans un but génétique ,

- 200 autres salives, provenant de sujets porteurs d'hémopathies malignes, hospitalisés dans les services des Professeurs B. DREYFUS, R. ANDRE et J. DEBRAY .

Pour uniformiser les résultats de ces études , un score a été établi avec les cotations suivantes :

|     |   |    |
|-----|---|----|
| -   | = | 10 |
| (+) | = | 8  |
| +   | = | 5  |
| ++  | = | 0  |

Exemples de résultats (Tableau n° 2) :

Considérons un sujet, par exemple de groupe A, avec les 4 possibilités :

1. Le Le ( ou Le le )    sécréteur        (Se Se ou Se se)
2. le le                    sécréteur        (Se Se ou Se se)
3. Le Le ( ou Le le )    non sécréteur (se se)
4. le le                    non sécréteur (se se)



| Dilutions saline                                                                                                                                                                                                    | 4  | 8  | 16 | 32 | 64 | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | 8000 | 16000 | 32000 | Témoins | Scores |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|------|------|------|------|-------|-------|---------|--------|
| - Anti-A 1/8<br>+ GR A2 à 2% ...<br>- Anti-B 1/16<br>+ GR B à 2% ....<br>- Anti-H 1/8<br>+ GR O à 2% ....<br>- Anti-Le <sup>a</sup> 2gtes..<br>+ GR O le(a+b-)T<br>- Anti-Le <sup>b</sup> 2gtes<br>+ GR O le(a-b+)T | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | +   | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 75     |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | -  | -  | -  | +  | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 35     |
|                                                                                                                                                                                                                     | -  | -  | -  | -  | +  | +   | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 50     |
|                                                                                                                                                                                                                     | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -   | -    | -    | +    | ++   | ++    | ++    | ++      | 105    |
| I) Sujet A, le Se ;                                                                                                                                                                                                 |    |    |    |    |    |     |     |     |      |      |      |      |       |       |         |        |
| - Anti-A .....<br>- Anti-B .....<br>- Anti-H .....<br>- Anti-Le <sup>a</sup> .....<br>- Anti-Le <sup>b</sup> .....                                                                                                  | -  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 100    |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | -  | -  | -  | -  | -  | +   | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 55     |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
| II) Sujet A, le le, Se ;                                                                                                                                                                                            |    |    |    |    |    |     |     |     |      |      |      |      |       |       |         |        |
| - Anti-A .....<br>- Anti-B .....<br>- Anti-H .....<br>- Anti-Le <sup>a</sup> .....<br>- Anti-Le <sup>b</sup> .....                                                                                                  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -   | -    | (+)  | +    | +    | ++    | ++    | ++      | 108    |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
| III) Sujet A, le, se se ;                                                                                                                                                                                           |    |    |    |    |    |     |     |     |      |      |      |      |       |       |         |        |
| - Anti-A .....<br>- Anti-B .....<br>- Anti-H .....<br>- Anti-Le <sup>a</sup> .....<br>- Anti-Le <sup>b</sup> .....                                                                                                  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
| IV) Sujet A, le le, se se ;                                                                                                                                                                                         |    |    |    |    |    |     |     |     |      |      |      |      |       |       |         |        |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |
|                                                                                                                                                                                                                     | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++    | ++    | ++      | 0      |



C - VARIANTES DE CETTE TECHNIQUE CLASSIQUE

1°) RACE et SANGER (48), par exemple, réduisent le premier temps de la technique à 2 ou 3 minutes. A l'inverse, BIANCO et Coll. (6) laissent 1 heure 30 pour le premier temps, 10 minutes pour le second temps. BOYD (10) préfère mettre le mélange -salive diluée-sérum-test- à 37°C pendant 1 heure, puis après addition d'hématies tests, il lit immédiatement après une courte centrifugation.

2°) Diverses sources de réactifs ont été employées :. l'anti-A :

- outre l'anti-A humain,
- l'anti-A humain non stimulé, élué de globules A<sub>1</sub>,
- l'anti-A immun de lapin ; précipitine anti-A immune de poulet,
- extrait de Lima-bean,
- extraits de Dolichos biflorus, d'Hélix hortensis.

. l'anti-H :

- outre les extraits salins d'Ulex Europaeus, employés le plus fréquemment,
- SNEATH emploie l'anti-H humain provenant de sujets A<sub>1</sub> et A<sub>1</sub>B,
- d'autres anti-H humains sont utilisés : anti-H de sujets Bombay, de sujets Bh et Ah,
- MORGANTI utilise l'anti-H d'anguille, MATSUNAGA l'anti-H de poulet,
- citons l'anti-H du Lotus Tetra Gomolobus, du Cytisus Sessilifolius, du Laburnum Watereri .

. l'anti-Le<sup>b</sup> :

- GRUBB (24) et ANDRESEN (3) utilisent un anti-Le<sup>bH</sup>,
- CEPPELLINI (14) emploie un anti-Le<sup>bL</sup>.



S'il existe de nombreuses techniques pour mettre en évidence les substances salivaires, il est important de souligner que leur comparaison se limite à la présence ou non d'une substance salivaire donnée. Par contre, dans une étude systématique quantitative, il faut adopter une technique et s'y tenir .

D - Dans un certain nombre de cas, il faut recourir à des artifices techniques si l'on veut mettre en évidence une substance soluble quantitativement diminuée ou qualitativement différente :

1°) Recherche des substances solubles en faible quantité :

Dans ce cas, la salive n'est pas diluée, par contre, le réactif est dilué de 1/2 en 1/2 sur 10 tubes. Les hématies tests sont à 4 % en saline, et le mélange "saline - réactif - hématies" est laissé non pas 1 heure 30 mais 2 heures à 22°C. La série témoin est capitale, comportant également 10 microtubes Rhésus, la salive est remplacée par de la salive de sujet lele sese.

Ainsi, une diminution du titre final du sérum vis-à-vis de l'hématie test utilisée dans la série réaction par rapport à la série témoin prouve la présence de substance soluble.

2°) En cas de sujets A ou B faibles, on peut être amené à changer le système révélateur .

Ainsi, pour rechercher la sécrétion A ou B chez un  $A_x$  ou un  $B_{20}$  , on prendra un système anti-A de 0 contre  $A_x$  , un anti-B de 0 actif contre  $B_{20}$  .

De même, pour mettre en évidence la sécrétion H d'un  $A_{c1}$  , on peut devoir utiliser un anti-H de sujet Bombay.

3°) Une méthode quantitative, peut-être plus précise, est donnée par BAER et collaborateurs (5) :

Ces auteurs ont préparé un anticorps anti-H par injections au poulet de substance H purifiée, extraite d'un kyste mucoïde de



l'ovaire, et ont mesuré la quantité d'azote précipitée par ce réactif dans la salive de sécréteurs de groupe O . Une telle méthode ne peut guère être utilisée en pratique courante du fait de sa complexité.

Telles sont les méthodes de mise en évidence des substances de groupes salivaires. Bien entendu, ces méthodes peuvent être également employées pour la mise en évidence de telles substances dans d'autres sécrétions de l'organisme ( liquide gastrique, lait, urine, kyste ovarien, etc.....).



CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION



A - L'étude de ces 318 salives a permis de calculer les pourcentages des phénotypes salivaires selon le groupe sanguin ABO des sujets (Tableau n° 1).

Le pourcentage anormalement élevé de sujets O (51,9%) dans notre statistique tient au fait que les sujets sains que nous avons testés et qui sont des donneurs de sang peuvent être divisés en deux groupes :

- des sujets pris au hasard parmi les donneurs de sang,
- des sujets de groupe O, car leur sang est réservé à la constitution de panel d'hématies en vue d'identifier les allo-anticorps anti-érythrocytaires.

Parmi ces 318 sujets, non apparentés, 256 ( soit 80,5% ) sont sécréteurs ; 283 ( soit 89 % ) possèdent, en simple ou double dose, le gène "Le" ; enfin, 5 sujets ( soit 1,57 % ) sont non sécréteurs et ne possèdent pas le gène Le .

T A B L E A U    N° 1

| G.S.                     | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | O    | B    | AB   | TOTAL |
|--------------------------|----------------|----------------|------|------|------|-------|
| N <sup>b</sup> de sujets | 94             | 17             | 165  | 29   | 13   | 318   |
| en %                     | 29,6           | 5,3            | 51,9 | 9,12 | 4,08 | 100   |
| Sujets Se                | 77             | 13             | 134  | 22   | 10   | 256   |
| en %                     | 82             | 76,5           | 81,2 | 75,8 | 76,6 | 80,50 |
| Sujets Le                | 81             | 17             | 149  | 24   | 12   | 283   |
| en %                     | 86,2           | 100            | 90,3 | 82,7 | 92,4 | 89    |
| Sujets lele sese         | 1              | 0              | 2    | 2    | 0    | 5     |
| en %                     | 1              | 0              | 1,2  | 7    | 0    | 1,57  |
| Sujets Le Se             | 65             | 13             | 120  | 19   | 9    | 226   |
| en %                     | 69,2           | 76,5           | 72,7 | 65,5 | 69   | 71,07 |
| Sujets lele Se           | 12             | 0              | 14   | 3    | 1    | 30    |
| en %                     | 12,8           | 0              | 8,5  | 10,3 | 7,6  | 9,43  |
| Sujets Le sese           | 16             | 4              | 29   | 5    | 3    | 57    |
| en %                     | 17             | 23,5           | 17,6 | 17,2 | 23,4 | 17,92 |



Cette répartition des phénotypes salivaires est en accord avec les séries d'autres auteurs, portant sur des effectifs souvent plus grands . La plus caractéristique est celle publiée par RACE et SANGER (48), tirée d'une étude sur l'ulcère peptique effectuée à Liverpool par Mac CONNEL (35) : sur 1 118 sujets étudiés, ce dernier trouve 864 sécréteurs (soit 77,3 %) et 254 non sécréteurs (soit 22,7 %). GRUBB (24) , en 1951 étudiant 1 000 salives, trouve 71,5 % de sujets Le Se, 18,7 % Le sese, 8,3 % lele Se et 1,5 % lele sese. Ces pourcentage, cependant, sont variables suivant les populations étudiées. Ainsi, par exemple, KAKLAMANIS et Coll. (29) trouvent, dans une population indienne ("Black-foot Indians"), 95 % de sujets sécréteurs pour 5 % de sujets non sécréteurs et 22 % de sujets Le(a-b-), sujets ne possédant pas le gène Le. Ces divers pourcentages sont résumés dans le tableau n° 2.

T A B L E A U    N° 2

| Auteurs         | Nb de sujets étudiés | Sécréteurs | Non sécréteurs |
|-----------------|----------------------|------------|----------------|
| Mac CONNEL(35)  | 1 118 (Européens)    | 77,3 %     | 22,7 %         |
| GRUBB (24)      | 1 000 (Européens)    | 79,8 %     | 20,2 %         |
| KAKLAMANIS (29) | Pop. Indienne        | 95 %       | 5 %            |
| La nôtre        | 318 (France)         | 80,5 %     | 19,5 %         |

Dans notre série, la propriété d'être sécréteur est la même quelque soit le groupe sanguin ABO, ce qui va à l'encontre de l'observation de FORMAGGIO (20), dans laquelle il est noté un pourcentage plus important de sécréteurs parmi les sujets A par rapport aux sujets O (respectivement 88,26 % et 76,03 % ).

B) La comparaison des scores d'inhibition d'agglutination montre que les quantités de substances sécrétées (A,B,H,Le<sup>a</sup> et Le<sup>b</sup>) varient considérablement d'un sujet à l'autre. Cependant, l'étude de la répartition



des diverses classes montre une distribution en courbes de Gauss pour chaque substance sécrétée et ce quelque soit le phénotype salivaire et le groupe ABO des sujets (Tableau n° 3).

T A B L E A U    N° 3

| Scores d'<br>inhibition   | ≤ 20 | 21<br>à<br>30 | 31<br>à<br>40 | 41<br>à<br>50 | 51<br>à<br>60 | 61<br>à<br>70 | 71<br>à<br>80 | 81<br>à<br>90 | 91<br>à<br>100 | ≥ 101 | TOTAL |
|---------------------------|------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|-------|-------|
| Substance A               | 0    | 2             | 1             | 6             | 4             | 11            | 18            | 27            | 18             | 13    | 100   |
| Substance B               | 0    | 1             | 1             | 4             | 1             | 7             | 6             | 7             | 4              | 1     | 32    |
| Substance H               | 18   | 31            | 43            | 58            | 58            | 35            | 9             | 3             | 1              | 0     | 256   |
| Substance Le <sup>a</sup> | 3    | 11            | 18            | 53            | 50            | 45            | 37            | 38            | 18             | 10    | 283   |
| Substance Le <sup>b</sup> | 0    | 1             | 5             | 6             | 16            | 29            | 37            | 40            | 50             | 42    | 226   |

C) Nous avons ensuite comparé la quantité de substance A sécrétée par les sujets  $A_1$  et les sujets  $A_2$  ( Tableau n° 4 ).

T A B L E A U    N° 4

| Scores d'inhi-<br>bition par la<br>substance A | ≤ 40 | 41<br>à<br>50 | 51<br>à<br>60 | 61<br>à<br>70 | 71<br>à<br>80 | 81<br>à<br>90 | ≥ 91 | TOTAL |
|------------------------------------------------|------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------|-------|
| Sujets $A_1$                                   | 2    | 4             | 4             | 7             | 14            | 20            | 26   | 77    |
| Sujets $A_2$                                   | 0    | 0             | 0             | 2             | 2             | 5             | 4    | 13    |



$\chi^2 \neq 0,88$  pour ddl = 2

| Scores d'inhibition par la substance A | $\leq 80$ | 81 à 90 | $\geq 91$ | TOTAL |
|----------------------------------------|-----------|---------|-----------|-------|
| Sujets $A_1$                           | 31        | 20      | 26        | 77    |
| Sujets $A_2$                           | 4         | 5       | 4         | 13    |

Après réunion des classes, le test du  $\chi^2$  n'a pas montré de différence significative entre ces deux groupes. Sur ce point, les opinions sont variables suivant les auteurs. Certains ne trouvent aucune différence entre les sujets  $A_1$  et  $A_2$  ; d'autres trouvent une quantité plus importante de substance A salivaire chez les sujets  $A_1$  que chez les sujets  $A_2$ . Cette différence n'apparaissant seulement qu'avec certains réactifs anti-A.

D) De même, nous avons comparé la quantité de substance H salivaire chez les sujets 0 et non 0 (sans tenir compte du gène Le) . Après réunion des classes, le  $\chi^2$  se montre hautement significatif (Tableau n° 5). Ainsi, les sujets non 0 sécrètent moins de substance H que les sujets de groupe 0.

Ceci est en accord avec la plupart des auteurs (9, 16 , 48, ) . Sur le globule rouge, l'agglutinabilité par l'anti-H va en décroissant des sujets 0 vers les sujets  $A_2$  , puis B, enfin  $A_1$  . Par contre, (BOETTCHER 9), dans la salive, l'agglutinabilité par l'anti-H décroît de 0 vers  $A_2$ , puis  $A_1$ , enfin B.

.../...



TABLEAU N° 5

| Scores d'inhibition par la substance H | $\leq 20$ | 21 à 30 | 31 à 40 | 41 à 50 | 51 à 60 | 61 à 70 | $\geq 71$ | TOTAL |
|----------------------------------------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|-----------|-------|
| Sujets A <sub>1</sub>                  | 6         | 17      | 24      | 14      | 10      | 5       | 1         | 77    |
| Sujets A <sub>2</sub>                  | 2         | 0       | 4       | 3       | 2       | 2       | 0         | 13    |
| Sujets B                               | 6         | 8       | 3       | 1       | 2       | 1       | 1         | 22    |
| Sujets AB                              | 4         | 1       | 2       | 3       | 0       | 0       | 0         | 10    |
| Sujets non O                           | 18        | 26      | 33      | 21      | 14      | 8       | 2         | 122   |
| Sujets O                               | 0         | 5       | 10      | 37      | 44      | 27      | 11        | 134   |

| Scores d'inhibition par la substance H | $\leq 30$ | 31 à 40 | 41 à 50 | 51 à 60 | $\geq 61$ | TOTAL |
|----------------------------------------|-----------|---------|---------|---------|-----------|-------|
| Sujets non O                           | 44        | 33      | 21      | 14      | 10        | 122   |
| Sujets O                               | 5         | 10      | 37      | 44      | 38        | 134   |

$$\chi^2 \neq 79,08$$

pour ddl = 4

.../...



E) Dans les tableaux suivants ( Tableaux n° 6, 7 et 8 ), nous avons comparé la quantité de substance Lewis a sécrétée :

- Chez les sujets O et les sujets non O, sécréteurs d' ABH (sujets de phénotype salivaire Le Se) ( Tableau n° 6 ),

- Chez les sujets O et les sujets non O, non sécréteurs d'ABH (sujets de phénotype salivaire Le sese ) ( Tableau N° 7 ),

- Enfin, chez les sujets Le Se et Le sese , quelque soit le groupe sanguin ABO ( Tableau n° 8 ).

Des données de ces 3 tableaux, il ressort que la quantité de substance Le<sup>a</sup> sécrétée est identique quelque soit le groupe ABO des sujets ( qu'il s'agisse de sujets Le Se ou de sujets Le sese ). Par contre, les sujets Le sese ont une quantité beaucoup plus importante de substance Le<sup>a</sup> salivaire que les sujets Le Se (Tableau n° 8 ) . Cette différence est en parfait accord avec la théorie de GRUBB et CEPPELLINI, la substance Le<sup>a</sup> restant intacte du fait de l'absence du gène H.

T A B L E A U    N°    6

| Scores d'inhibition par la substance Le <sup>a</sup> | ≤ 30 | 31 à 40 | 41 à 50 | 51 à 60 | 61 à 70 | 71 à 80 | 81 à 90 | ≥ 91 | TOTAL |
|------------------------------------------------------|------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------|-------|
| Sujets A <sub>1</sub>                                | 6    | 4       | 13      | 16      | 14      | 4       | 7       | 1    | 65    |
| Sujets A <sub>2</sub>                                | 1    | 1       | 3       | 2       | 3       | 2       | 1       | 0    | 13    |
| Sujets B                                             | 0    | 5       | 7       | 4       | 2       | 1       | 0       | 0    | 19    |
| Sujets AB                                            | 0    | 1       | 3       | 2       | 1       | 1       | 0       | 1    | 9     |
| Sujets non O                                         | 7    | 11      | 26      | 24      | 20      | 8       | 8       | 2    | 106   |
| Sujets O                                             | 7    | 7       | 21      | 26      | 22      | 24      | 9       | 4    | 120   |



| Scores d'inhibition<br>par la substance $Le^a$ | $\leq 40$ | 41<br>à<br>60 | 61<br>à<br>80 | $\geq 81$ | TOTAL |
|------------------------------------------------|-----------|---------------|---------------|-----------|-------|
| Sujets non O                                   | 18        | 50            | 28            | 10        | 106   |
| Sujets O                                       | 14        | 47            | 46            | 13        | 120   |

$\chi^2 \neq 4,47$  pour ddl = 3

TABLEAU N° 7

| Scores d'inhibition par la substance $Le^a$ | $\leq 50$ | 51<br>à<br>60 | 61<br>à<br>70 | 71<br>à<br>80 | 81<br>à<br>90 | 91<br>à<br>100 | $\geq 101$ | TOTAL |
|---------------------------------------------|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|------------|-------|
| Sujets $A_1$                                | 2         | 0             | 1             | 0             | 8             | 3              | 2          | 16    |
| Sujets $A_2$                                | 0         | 0             | 0             | 1             | 2             | 1              | 0          | 4     |
| Sujets B                                    | 0         | 0             | 0             | 2             | 1             | 1              | 1          | 5     |
| Sujets AB                                   | 2         | 0             | 0             | 0             | 1             | 0              | 0          | 3     |
| Sujets non O                                | 4         | 0             | 1             | 3             | 12            | 5              | 3          | 28    |
| Sujets O                                    | 2         | 0             | 2             | 2             | 9             | 7              | 7          | 29    |

| Scores d'inhibition par la substance $Le^a$ | $\leq 80$ | 81 à 90 | $\geq 91$ | TOTAL |
|---------------------------------------------|-----------|---------|-----------|-------|
| Sujets non O                                | 8         | 12      | 8         | 28    |
| Sujets O                                    | 6         | 9       | 14        | 29    |

$\chi^2 \neq 2,38$  pour ddl = 2

.../...



T A B L E A U N° 8

| Scores d'inhibition par la substance Le <sup>a</sup> | ≤ 50 | 51 à 80 | ≥ 81 | TOTAL |
|------------------------------------------------------|------|---------|------|-------|
| Sujets Le Se                                         | 79   | 124     | 23   | 226   |
| Sujets Le sese                                       | 6    | 8       | 43   | 57    |

$$\chi^2 \neq 34,6$$

pour ddl = 2

F) Nous avons enfin comparé la quantité de substance Lewis b sécrétée par les sujets O et non O ( la substance Le<sup>b</sup> n'étant présente que chez les sujets sécréteurs ayant le gène Le ). Là aussi (Tableau n° 9), nous trouvons une différence hautement significative entre ces deux catégories de sujets : les sujets de groupe sanguin O sécrètent beaucoup plus de substance Le<sup>b</sup> que les sujets non O.

T A B L E A U N° 9

| Scores d'inhibition par la substance Le <sup>b</sup> | ≤ 50 | 51 à 60 | 61 à 70 | 71 à 80 | 81 à 90 | 91 à 100 | 101 à 110 | ≥ 111 | TOTAL |
|------------------------------------------------------|------|---------|---------|---------|---------|----------|-----------|-------|-------|
| Sujets A <sub>1</sub>                                | 3    | 9       | 14      | 12      | 11      | 10       | 5         | 1     | 65    |
| Sujets A <sub>2</sub>                                | 0    | 0       | 1       | 5       | 1       | 2        | 2         | 2     | 13    |
| Sujets B                                             | 6    | 2       | 6       | 3       | 0       | 1        | 1         | 0     | 19    |
| Sujets AB                                            | 3    | 2       | 1       | 0       | 2       | 0        | 1         | 0     | 9     |
| Sujets non O                                         | 12   | 13      | 22      | 20      | 14      | 13       | 9         | 3     | 106   |
| Sujets O                                             | 0    | 3       | 7       | 17      | 26      | 37       | 20        | 10    | 120   |



| Scores d'inhibition<br>par la substance $\text{Le}^b$ |  | $\leq 70$ | 71<br>à<br>80 | 81<br>à<br>90 | 91<br>à<br>100 | $\geq 101$ | TOTAL |
|-------------------------------------------------------|--|-----------|---------------|---------------|----------------|------------|-------|
| Sujets non O                                          |  | 47        | 20            | 14            | 13             | 12         | 106   |
| Sujets O                                              |  | 10        | 17            | 26            | 37             | 30         | 120   |

$$\chi^2 \neq 46,22 \quad \text{pour ddl} = 4$$

Mais dans cette étude, l'anti- $\text{Le}^b$  utilisé est un anti- $\text{Le}^{bH}$ , aussi est-il normal que la quantité de  $\text{Le}^b$  soit parallèle à celle de H. Comme la quantité de H est plus importante chez les sujets O par rapport aux sujets non O, il en est de même pour la substance  $\text{Le}^{bH}$ . Il est probable qu'en utilisant un anti- $\text{Le}^{bL}$ , les quantités secrétées seraient identiques quelque soit le groupe ABO, ce dernier n'intervenant plus. Dans le cas contraire, il faudrait admettre que l'activité de Le est conditionnée par H : il y aurait alors régulation entre ces deux gènes.



C H A P I T R E   I V

ETUDE DES SECRECTIONS SALIVAIRES CHEZ LES SUJETS DE

PHENOTYPES A OU B FAIBLES



La classification des phénotypes rares dans le système ABO est loin d'être simple car l'inventaire des diverses variétés n'est probablement pas achevé. Les divers phénotypes A et B faibles se présentent actuellement sous des formes relativement bien individualisées, en partie grâce à l'étude des familles et des sécrétions salivaires.

On entend par phénotypes A faibles des antigènes érythrocytaires A s'exprimant par une antigénicité inférieure à  $A_2$ . L'ensemble de ces phénotypes comporte :

- les  $A_3$ , les  $A_x$ , les  $A_{\text{end}}$ , qui sont révélabiles par des réactions d'agglutination ;

- les  $A_m$  et les  $A_{\text{el}}$  qui sont révélabiles seulement par des épreuves de fixation-élution.

De même, pour les phénotypes B faibles, on peut schématiquement distinguer les B "faibles", et les B "partiels", tous deux révélés par des réactions d'agglutination et les  $B_0$  révélés par fixation-élution.

Nous excluons de cette étude les antigènes faibles par défaut de substance H et les antigènes modifiés au cours des hémopathies malignes ( ces derniers seront décrits dans le Chapitre V ).

Le tableau n° 1 résume les différentes variétés des antigènes A et B faibles.

T A B L E A U    N° 1

| PHENOTYPE        | $\beta$ | $\alpha$  | $\alpha\beta$ | anti-A | anti-B | % d'agglutination |
|------------------|---------|-----------|---------------|--------|--------|-------------------|
| $A_3$            | -       | <u>++</u> | <u>++</u>     | + ou - | +++    | 63 $\pm$ 10       |
| $A_x$            | -       | (+)       | +             | +      | +++    | 33 $\pm$ 10       |
| $A_{\text{end}}$ | -       | <u>+</u>  | <u>+</u>      | + ou - | +++    | 10 $\pm$ 5        |
| $A_m$            | -       | -         | -             | -      | +++    | 0                 |
| $A_{\text{el}}$  | -       | -         | -             | + ou - | +++    | 0                 |



| PHENOTYPE      | $\beta$   | $\alpha$ | $\alpha\beta$ | Anti-A | Anti-B | % d'agglutination |
|----------------|-----------|----------|---------------|--------|--------|-------------------|
| B faible       | <u>++</u> | -        | <u>++</u>     | +++    | -      | 60 $\pm$ 10       |
| B partiel      | (+)       | -        | +             | +++    | (+)    | 15 $\pm$ 5        |
| B <sub>o</sub> | -         | -        | -             | +++    | -      | 0                 |

L'étude de la sécrétion salivaire des substances de groupe ABH est impérative chez ces sujets et nécessite souvent des systèmes révélateurs spéciaux, des réactifs de provenance connue, à des dilutions adéquates (cf. Chapitre II).

Nous étudierons successivement un exemple de chacun de ces phénotypes rares.

## I - LES PHENOTYPES A FAIBLES

### - Le phénotype A<sub>3</sub> :

Il se caractérise par une agglutination partielle, observable sur plaque d'opaline par les sérums anti-A et anti-A+B. Le réactif anti-A d'Hélix donne la même image d'agglutination et le réactif anti-H agglutine fortement les hématies A<sub>3</sub>. Cette réaction de l'anti-H est d'ailleurs la même pour tous les phénotypes A faibles qui vont suivre.

Dans le sérum, on trouve toujours un anti-B et parfois un anti-A actif, surtout vis-à-vis des hématies A<sub>1</sub>.

Chez les sujets sécréteurs de ce type, la recherche de la substance salivaire A, dans des conditions normales, s'avère positive. Cette substance A est toujours facilement mise en évidence. Le score d'inhibition de l'anti-A, bien que pouvant être inférieur à celui des sujets A<sub>1</sub> ou A<sub>2</sub>, est le plus souvent élevé, comparable à celui observé dans l'étude des salives des sujets A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub>.



- Le phénotype  $A_x$  :

Il se caractérise sur plaque par les réactions suivantes :

- agglutination négative ou faible avec les sérums anti-A,
- agglutination faible mais non partielle avec la plupart des sérums de sujets de groupe O (sérum anti-A+B),
- agglutination négative avec l'anti-A d'Hélix.

Dans le sérum, il y a toujours un anti-A, le plus souvent faible et réagissant généralement mieux avec les hématies  $A_1$  qu'avec les hématies  $A_2$ , et n'étant observable parfois qu'à basse température.

La salive contient une forme particulière de substance A qui n'est révélabile le plus souvent que si l'on recherche l'inhibition de l'agglutination des  $A_x$  par les anti-A de O. Elle se comporte donc comme une substance A partielle.

Ce point est capital, car si l'on n'utilise pas un tel système révélateur, on pourrait en conclure que les sujets  $A_x$  ne sécrètent pas de substance A.

- Les phénotypes  $A_{end}$  :

Leur agglutination sur plaque présente les caractéristiques suivantes :

- apparition lente demandant plusieurs minutes ,
- image de double population avec agglutinats peu nombreux,
- l'examen microscopique, après étalement sur lame de verre, montre que ces agglutinats sont composés de 5 à 10 hématies dans le cas des  $A_{end}$  de type 1, et de 20 à 50 hématies dans le cas des  $A_{end}$  de type 2 ,
- l'adjonction de ClNa, ou le traitement des hématies par les enzymes, ne modifient pas la réaction,
- cette agglutination n'apparaît pas par sédimentation en microtubes pour les  $A_{end}$  de type 1 ; elle est par contre visible par centrifugation,
- les essais de séparation se soldent par un échec, prou-



vant ainsi qu'il ne s'agit pas d'un mélange d'hématies A faibles et O, mais bien d'une seule population d'hématies A faibles.

- l'anti-A de B donne un pourcentage d'agglutination d'environ 5 % dans le cas des  $\Lambda_{\text{end}}$  de type 1, et 15 % dans le cas des  $\Lambda_{\text{end}}$  de type 2 ,

Le sérum des sujets  $\Lambda_{\text{end}}$  peut contenir un anti- $\Lambda_1$ .

La salive de ces sujets a été étudiée par la technique classique et par des techniques spéciales : dilutions de l'anti-A (de sujets B) vis-à-vis d'hématies  $\Lambda_2$  , et utilisation d'hématies  $\Lambda_x$  et  $\Lambda_{\text{end}}$  comme système révélateur, les réactions s'effectuant soit sur plaque d'opaline, soit en microtubes. Quelles que soient les techniques utilisées, on ne met pas en évidence de substance A dans les salives des sujets sécréteurs, comme le montrent les tableaux ci-dessous (Tableaux n° 2 et 3).

T A B L E A U N° 2 : Exemple de  $\Lambda_{\text{end}}$  de type 1 (CHE.)

|                      | 4  | 8  | 16 | 32 | 64 | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES               |
|----------------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|------|------|------|----------------------|
| Anti-H               | -  | -  | -  | +  | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | H = 35               |
| Anti-Le <sup>a</sup> | -  | -  | -  | -  | -  | -   | +   | ++  | ++   | ++   | ++   | Le <sup>a</sup> = 65 |
| Anti-Le <sup>b</sup> | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | (+) | +    | ++   | ++   | Le <sup>b</sup> = 83 |
| Anti-B               | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | B = 0                |
| Anti-A : 1/10°       | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  |     |      |      |      | A = 0                |
| 1/20°                | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  |     |      |      |      |                      |
| 1/30°                | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  |     |      |      |      |                      |

T A B L E A U N° 3 : exemple de  $\Lambda_{\text{end}}$  de type 2 (TRE.)

|                                | 4  | 8  | 16 | 32 | 64 | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES               |
|--------------------------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|------|------|------|----------------------|
| Anti-H                         | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | +   | ++   | ++   | ++   | H = 75               |
| Anti-Le <sup>a</sup>           | -  | -  | -  | -  | -  | -   | +   | ++  | ++   | ++   | ++   | Le <sup>a</sup> = 65 |
| Anti-Le <sup>b</sup>           | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -   | -    | +    | ++   | Le <sup>b</sup> = 95 |
| Anti-B                         | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | B = 0                |
| Anti-A/A <sub>2</sub>          | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | A = 0                |
| Anti-A/ $\Lambda_x$            | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   |                      |
| Anti-A/ $\Lambda_{\text{end}}$ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   |                      |

.../...



- Les phénotypes  $A_m$  :

Pour ce phénotype, l'étude salivaire est fondamentale. En effet, aucune agglutination n'est obtenue, ni par l'anti-A, ni par l'anti-B, ni par l'anti-A+B ; le sérum contient un anti-B mais pas d'anti-A, ni d'anti- $A_1$ . Il y a donc une discordance entre l'épreuve sérique et l'épreuve globulaire. Seule la fixation-élution des anti-A (anti-A de B et anti-A de O) permet de mettre en évidence l'antigène A à la surface du globule rouge. On trouve dans la salive des sécréteurs de la substance A.

Deux catégories d' $A_m$  peuvent être distinguées selon les scores de fixation-élution et la quantité de substance A sécrétée dans la salive :

- d'une part, les  $A_m$  de type mendélien, de loin les plus fréquents, caractérisés par un score de fixation-élution voisin de 30, une quantité normale de substance A dans la salive (cette sécrétion étant voisine de celle d'un sujet A), une transmission mendélienne simple (Tableau n° 4) ,

- d'autre part, les  $A_m$  de type "yy", caractérisés par une réaction de fixation-élution positive mais difficile et de score nettement inférieur au type précédent (5 à 10 selon les cas que nous avons étudiés), une quantité plus faible de substance A sécrétée dans la salive (mieux mise en évidence en utilisant des hématies  $A_x$  comme système révélateur) et surtout le fait que la transmission génétique n'apparaît pas comme étant mendélienne, en ce sens que le sujet présentant un tel phénotype est isolé à l'intérieur de sa famille. L'hypothèse d'un gène répresseur "y" en double dose a été émise par WEINER et Coll. (69) pour expliquer ce phénotype ( Tableau n° 5 ).

T A B L E A U N° 4 : exemple de  $A_m$  de type mendélien (LEPA)

|                      | 4  | 8  | 16  | 32  | 64 | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES               |
|----------------------|----|----|-----|-----|----|-----|-----|-----|------|------|------|----------------------|
| Anti-H               | -  | -  | (+) | (+) | +  | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | H = 41               |
| Anti-Le <sup>a</sup> | -  | -  | -   | -   | -  | -   | (+) | ++  | ++   | ++   | ++   | Le <sup>a</sup> = 68 |
| Anti-Le <sup>b</sup> | -  | -  | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -    | +    | ++   | Le <sup>b</sup> = 95 |
| Anti-B               | ++ | ++ | ++  | ++  | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | B = 0                |
| Anti-A               | -  | -  | -   | -   | -  | -   | (+) | +   | ++   | ++   | ++   | A = 73               |



T A B L E A U N° 5 : exemple de  $A_m$  de type "yy" (GAU.)

|                                   | 4  | 8  | 16 | 32 | 64 | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES               |
|-----------------------------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|------|------|------|----------------------|
| Anti-H                            | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -   | +    | ++   | ++   | H = 85               |
| Anti-Le <sup>a</sup>              | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -   | +    | ++   | ++   | Le <sup>a</sup> = 85 |
| Anti-Le <sup>b</sup>              | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -   | -    | +    | ++   | Le <sup>b</sup> = 95 |
| Anti-B                            | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | B = 0                |
| Anti-A/A <sub>2</sub>             | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | A = 5                |
| Anti-A au<br>1/4°/A <sub>x</sub>  | -  | +  | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | A = 15               |
| Anti-A au<br>1/10°/A <sub>x</sub> | -  | -  | -  | -  | -  | (+) | +   | +   | ++   | ++   | ++   | A = 68               |

- Le phénotype  $A_{el}$  :

Ce phénotype, qui exprime un allèle rare au locus ABO, se définit par plusieurs caractères :

- une absence d'agglutination par les sérums anti-A des sujets B et O,

- une réaction de fixation-élution positive avec un anti-A : l'éluat de spécificité anti-A est de faible activité, les scores, selon notre expérience, étant de 20 à 30, comparables à ceux donnés par les plus faibles des  $A_m$  ;

- la présence constante pour les cinq sujets étudiés par LANSET et Coll. (31), d'anticorps anti-A dont l'activité peut être telle que ce phénotype peut être pris pour un O si seules des hématies  $A_1$  sont utilisées pour la contre-épreuve sérique ;

- l'absence d'antigène A dans la salive des sujets sécréteurs, et ce quelles que soient les techniques utilisées. Si la substance H est présente, elle est le plus souvent en quantité plus faible que chez les sujets O et chez les autres A faibles. Cette absence d'antigène A a été confirmée par la méthode d'inhibition classique d'une part, sur salive pure d'autre part (RACE et SANGER 48), enfin sur salive concentrée 30 fois ; des salives de sujets O lele sese et A lele sese, également



concentrées 30 fois, étant prises comme témoins (Tableau n° 6).

T A B L E A U   N° 6 : sujet  $\Lambda_{cl}$  (LEP.)

|                      | 4  | 8  | 16  | 32 | 64 | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES                |
|----------------------|----|----|-----|----|----|-----|-----|-----|------|------|------|-----------------------|
| Anti-H               | -  | -  | (+) | +  | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | H = 33                |
| Anti-Le <sup>a</sup> | -  | -  | -   | -  | -  | -   | (+) | +   | ++   | ++   | ++   | Le <sup>a</sup> = 73  |
| Anti-Le <sup>b</sup> | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -   | -   | -    | (+)  | +    | Le <sup>b</sup> = 103 |
| Anti-B               | ++ | ++ | ++  | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | B = 0                 |
| Anti-A               | ++ | ++ | ++  | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | $\Lambda$ = 0         |

## II - LES PHENOTYPES B FAIBLES

### - Le phénotype B "faible" :

Il se caractérise par une image de double population avec les divers anti-B, et l'absence d'anti-B dans le sérum, ce dernier élément étant fondamental. Ainsi, la salive d'un sujet B<sub>50</sub> (Cf. la note en bas de page), (sujet VID. sécréteur) contient de la substance B, qui n'est mise en évidence, dans le cas ci-dessous, qu'en utilisant les propres globules du sujet comme système révélateur. Ici, un anti-B provenant d'un sujet  $\Lambda_x$  (sérum DES.) a été utilisé comme réactif anti-B (Tableau n° 7). Mais il est évident que ces résultats auraient été identiques avec d'autres sérums anti-B.

.../...

Note : Les sujets B<sub>50</sub> sont appelés ainsi car le pourcentage d'agglutinabilité, dans des conditions constantes, avec un anti-B de référence, de telles hématies est de 50, alors que ce pourcentage pour les globules rouges B normaux est de 100. Cette classification a été proposée par SALMON.



T A B L E A U N° 7 : sujet B<sub>50</sub> (VID. de groupe A<sub>1</sub>B<sup>\*</sup>)

|                      | 4  | 8  | 16 | 32  | 64 | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES               |
|----------------------|----|----|----|-----|----|-----|-----|-----|------|------|------|----------------------|
| Anti-H               | -  | -  | -  | -   | -  | +   | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | H = 55               |
| Anti-Le <sup>a</sup> | -  | -  | -  | (+) | +  | +   | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | Le <sup>a</sup> = 48 |
| Anti-Le <sup>b</sup> | -  | -  | -  | +   | +  | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | Le <sup>b</sup> = 40 |
| Anti-B               | ++ | ++ | ++ | ++  | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | <u>B = 0</u>         |
| Anti-A               | -  | -  | -  | -   | -  | -   | -   | (+) | ++   | ++   | ++   | A = 78               |

| Salive VID. en dilutions<br>+ sérum anti-B (DES.) | 4  | 8  | 16  | 32 | 64 | 128 | 256 | SCORES        |
|---------------------------------------------------|----|----|-----|----|----|-----|-----|---------------|
| contre GR B normaux                               | ++ | ++ | ++  | ++ | ++ | ++  | ++  | B = 0         |
| contre GR de VID.                                 | -  | -  | (+) | +  | +  | +   | ++  | <u>B = 43</u> |

- Le phénotype B "partiel" : ( ~~B~~ B 20 )

Il est caractérisé par une agglutinabilité variable des hématies selon les sérums anti-B utilisés, l'existence d'une agglutinine anti-B qui n'est pas un auto-anticorps, enfin la mise en évidence d'une substance B salivaire inconstante, en raison peut-être du caractère également partiel de l'antigène hydrosoluble.

Dans notre exemple (sujet VOI. de groupe A<sub>1</sub>B<sup>\*</sup>), les hématies sont facilement agglutinées sur plaque par les anti-B provenant de sujets A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>x</sub> et A<sub>m</sub>, mais non agglutinées par les anti-B de A<sub>1</sub> et d'un cis AB. Ici, seule l'utilisation des propres globules du sujet peut mettre en évidence l'existence d'une substance salivaire B (Tableau n° 8).



T A B L E A U N° 8 : phénotype B "partiel" (VOI.)

|                      | 4  | 8  | 16  | 32 | 64  | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES               |
|----------------------|----|----|-----|----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|----------------------|
| Anti-H               | -  | -  | (+) | ++ | ++  | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | H = 28               |
| Anti-Le <sup>a</sup> | -  | -  | -   | -  | (+) | +   | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | Le <sup>a</sup> = 53 |
| Anti-Le <sup>b</sup> | -  | -  | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -    | +    | ++   | Le <sup>b</sup> = 95 |
| Anti-B               | ++ | ++ | ++  | ++ | ++  | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | B = 0                |
| Anti-A               | -  | -  | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -    | +    | ++   | A = 95               |

Inhibition de l'anti-B par la salive VOI. contre ses propres globules :

|               | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES |
|---------------|---|---|----|----|----|-----|-----|-----|------|------|------|--------|
| Anti-B pur    | - | - | -  | -  | -  | -   | (+) | +   | ++   | ++   | ++   | = 73   |
| Anti-B au 1/2 | - | - | -  | -  | -  | -   | -   | (+) | +    | +    | ++   | = 88   |
| Anti-B au 1/5 | - | - | -  | -  | -  | -   | -   | -   | +    | +    | ++   | = 90   |

Dans le cadre des phénotypes B "partiels", il faut y adjoindre l'antigène B du complexe cis AB. Un sujet (REN.) ayant ce complexe cis A<sub>1</sub> B a été étudié par REVIRON, SALMON et Coll. (50), et sa salive contenait les substances A, H, Le<sup>a</sup>, et Le<sup>b</sup> en quantité normale. La substance B, par contre, n'a pu être mise en évidence qu'en employant, comme système révélateur, les propres hématies du sujet. Ceci démontre, selon SALMON, le caractère partiel de l'antigène B hydrosoluble.

- Les phénotypes Bo :

Cette catégorie est caractérisée par une absence d'agglutination des hématies par les sérums anti-B. Seule l'épreuve de fixation-élution d'un anticorps anti-B démontre l'existence d'antigène B érythrocytaire. La recherche de substance B salivaire, par la méthode classique et par les techniques utilisant des hématies B faibles permet de distinguer 2 types :



- soit absence complète de toute substance B (sujet ABA. Tableau n° 9),
- soit présence, en quantité normale, de substance B salivaire (analogie avec le phénotype  $A_m$ ).

T A B L E A U   N° 9 : sujet Bo   (ABA)

|                                   | 4  | 8  | 16 | 32 | 64  | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES               |
|-----------------------------------|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|----------------------|
| Anti-H                            | -  | -  | -  | -  | (+) | +   | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | H = 53               |
| Anti-Le <sup>a</sup>              | -  | -  | -  | -  | -   | (+) | +   | ++  | ++   | ++   | ++   | Le <sup>a</sup> = 63 |
| Anti-Le <sup>b</sup>              | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -   | -   | -    | +    | ++   | Le <sup>b</sup> = 95 |
| Anti-A                            | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | A = 0                |
| Anti-B/B <sub>N<sub>x</sub></sub> | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | B = 0                |
| Anti-B/B <sub>80</sub>            | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   |                      |

### III) CAS PARTICULIER

Dans certains cas, il faut multiplier les artifices techniques, comme le montre l'exemple suivant (sujet AND.). Il s'agit d'un A faible, se rapprochant d'un  $A_{cl}$ , et l'étude salivaire met en évidence de la substance  $Le^a$  et  $Le^{bH}$ . Il n'y a pas de substances A et B, et la substance H est mise en évidence en quantité très minime. Cependant, on ne peut accepter un tel résultat. En effet, l'anti- $Le^b$  utilisé, sérum d'origine humaine, ressemble à l'anti-H et démontre qu'il doit y avoir de la substance H ; ce que nous avons confirmé en utilisant un anti-H humain de sujet  $B_h$ . (Tableau n° 10)



TABLEAU N° 10

|                           | 4  | 8  | 16 | 32 | 64 | 128 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | SCORES               |
|---------------------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|------|------|------|----------------------|
| Anti-H                    | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | H = 5                |
| Anti-Le <sup>a</sup>      | -  | -  | -  | -  | +  | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | Le <sup>a</sup> = 45 |
| Anti-Le <sup>b</sup>      | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -   | +    | ++   | ++   | Le <sup>b</sup> = 85 |
| Anti-B                    | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | B = 0                |
| Anti- $\Lambda/\Lambda_2$ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++  | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | $\Lambda$ = 0        |

|                      | 1 | 2   | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 |
|----------------------|---|-----|---|---|----|----|----|-----|
| Anti-H (Angui.) 1/4  | - | (+) | + | + | +  | +  | +  | +   |
| Anti-H (Humain) 1/20 | - | -   | + | + | ++ | ++ | ++ | ++  |
| Anti-H (Humain) 1/10 | - | -   | - | - | +  | +  | ++ | ++  |

En conclusion, l'étude de la salive est sans nul doute un élément fondamental de l'étude des sujets présentant un phénotype A ou B faibles. En effet, les réactions d'agglutination sur plaque avec les différents anti-A ou les différents anti-B, et les résultats donnés par l'étude qualitative et quantitative de la salive, permettent de distinguer plusieurs groupes :

1°) Pour les phénotypes A faibles :

- une réaction positive avec les réactifs anti-A fait penser aux phénotypes suivants :  $\Lambda_3$ ,  $\Lambda_x$ , et  $\Lambda_{\text{end}}$ . L'image de l'agglutination est assez typique pour avoir une idée sur le type de phénotype étudié ;

- une réaction négative avec l'anti-A, mais avec une fixation-élution positive d'anti-A oriente vers un  $\Lambda_m$  ou un  $\Lambda_{\text{el}}$ .

- l'étude de la sécrétion salivaire permet alors de trancher :



. en effet, la présence de substance A salivaire se voit chez les  $A_3$  ( la quantité sécrétée étant le plus souvent normale ), les  $A_x$  ( où il existe une substance A de type partiel ), les  $A_m$  mendéliens (où cette substance A est en quantité normale ) et les  $A_m$  de type "yy" (où elle est en quantité diminuée),

. son absence caractérise les phénotypes  $A_{end}$  et  $A_{cl}$  .

2°) Pour les phénotypes B faibles : la distinction en plusieurs groupes est strictement identique :

- une réaction positive avec les réactifs anti-B caractérise les B "faibles" et les B "partiels" ,

- une réaction négative avec l'anti-B, mais avec une fixation-élution positive d'anti-B caractérise les  $B_0$  et les  $B_m$  .

- l'étude de la sécrétion salivaire permet alors de confirmer le phénotype :

. la présence de substance B salivaire se voit chez les B "faibles" ou  $B_3$  (la quantité sécrétée étant le plus souvent normale), les B "partiels" ou  $B_x$  (où il existe une substance B de type partiel) et les  $B_m$  (où cette substance B est en quantité normale),

. son absence caractérise le phénotype  $B_0$  .

Le tableau n° 11 schématise ces conclusions :

T A B L E A U      N° 11

| A FAIBLES         | AGGLUTINATION | SUBSTANCE A SALIVAIRE |
|-------------------|---------------|-----------------------|
| $A_3$             | <u>++</u>     | +++ .                 |
| $A_x$             | (+)           | + .                   |
| $A_{end}$         | <u>+</u>      | -                     |
| $A_m$ : mendélien | -             | +++ .                 |
| type "yy"         | -             | + .                   |
| $A_{cl}$          | -             | -                     |



| B FAIBLES             | AGGLUTINATION | SUBSTANCE B SALIVAIRE |
|-----------------------|---------------|-----------------------|
| B "faible" ( $B_3$ )  | <u>++</u>     | +++ .                 |
| B "partiel" ( $B_x$ ) | (+)           | + °                   |
| $B_0$ : $B_m$         | -             | +++ .                 |
| $B_0$                 | -             | -                     |

+++ . = quantité normale

+ . = quantité diminuée

+ ° = qualitativement différente sans doute.



CHAPITRE V

ETUDE DE 200 SALIVES PROVENANT DE MALADES ATTEINTS D'  
HEMOPATHIES MALIGNES DIVERSES



## INTRODUCTION

C'est au cours des leucémies aiguës qu'ont été observées les premières modifications de groupes sanguins dues à une maladie. En 1956, WIENER et GORDON (70) publiaient leur observation de phénotype  $A_m$ , mais la relation entre ce phénotype et la leucémie n'avait pas encore été faite.

Successivement, VAN LOGHEM et Coll. (63), STRATTON et Coll. (60), SALMON, B. DREYFUS et Coll. (53) observaient des exemples de modifications des antigènes A, B, H, au cours des leucémies aiguës myéloblastiques.

Outre les antigènes  $A_1$  et A, l'antigène B était également trouvé modifié (33), de même que l'antigène H (diminué chez 20 % des sujets leucémique O (56)), l'antigène I, l'antigène i (excès de ce dernier dans plus de la moitié des cas de leucémies aiguës (58)).

Des modifications ont été trouvées ensuite dans les systèmes M N S et P (37), Lewis (62) et Rhésus (37,40).

Ces modifications, en règle affaiblissement des antigènes, paraissent particulièrement fréquentes au cours des leucémies aiguës myéloblastiques, mais elles s'observent également au cours des autres types cytologiques de leucémies aiguës, dans les leucémies chroniques, dans les anémies réfractaires (8,18,55), dans les syndrome myéloprolifératifs (40).

Une étude qualitative et quantitative a été effectuée sur les salives de ces 200 malades. Cette étude avait un double but :

- contrôler le caractère acquis des modifications des antigènes de groupes sanguins,



- rechercher une éventuelle diminution, voire une disparition de la sécrétion salivaire de substances de groupe hydrosolubles, concomitante à la diminution ou la disparition des antigènes alcoolosolubles du globule rouge. Une telle constatation a été rapportée par TEGOLI et Coll. au cours d'une affection maligne (61).

## MATERIEL ET METHODES

Les 200 salives étudiées se répartissent comme suit dans le système A B O :

| GROUPE SANGUIN                                              | A  | O  | B  | AB | TOTAL |
|-------------------------------------------------------------|----|----|----|----|-------|
| Nombre de cas étudiés                                       | 89 | 94 | 10 | 7  | 200   |
| Nombre de cas avec antigènes modifiés (dans le système ABO) | 31 | 8  | 0  | 4  | 43    |

La méthode employée est la méthode classique d'inhibition d'agglutination.

Chaque salive est systématiquement étudiée avec les 5 réactifs (anti-A, anti-B, anti-H, anti-Lewis a et anti-Lewis b ), sans connaître le groupe ABO du malade et son phénotype Lewis, et si le malade est porteur ou non d'une double population dans le système ABO.

Un score est établi, en cotant 10 pour -, 8 pour (+), 5 pour + et 0 pour ++ .

3 lots sont ainsi comparés :

- Lot I : lot témoin, comprenant 318 salives provenant de donneurs de sang du C.D.T.S. (cf. Chapitre III)

- Lot II : lot de malades (157 salives) dépourvus de



modifications des antigènes érythrocytaires.

- Lot III : lot de malades (43 salives) avec modifications antigéniques érythrocytaires.

## RESULTATS

La comparaison des lots I et II ne montre, par le test classique du  $X^2$ , aucune différence significative entre les diverses substances sécrétées (A,B,H, Lewis a et Lewis b).

Cette première étape est effectuée afin d'écarter toute modification dans la quantité de substances sécrétées chez ces hémopathes par rapport aux sujets normaux.

Dans un deuxième temps, nous comparons entre eux les lots II et III - les tableaux suivants résument ces diverses comparaisons :

1°) Sécrétion de la substance A chez les sujets A et AB des lots II et III :

| Scores d'inhibition | $\leq 60$ | 61 à 80 | 81 à 90 | $\geq 91$ | TOTAL |
|---------------------|-----------|---------|---------|-----------|-------|
| Lot II              | 7         | 16      | 8       | 7         | 38    |
| Lot III             | 8         | 8       | 5       | 6         | 27    |

$$X^2 = 1,60$$

2°) Sécrétion de substance H chez ces mêmes malades :

| Scores d'inhibition | $\leq 30$ | 31 à 40 | 41 à 50 | $\geq 51$ | TOTAL |
|---------------------|-----------|---------|---------|-----------|-------|
| Lot II              | 12        | 9       | 5       | 12        | 38    |
| Lot III             | 10        | 6       | 3       | 8         | 27    |

$$X^2 = 0,22$$

.../...



3°) Sécrétion de la substance Lewis a chez les 2 séries de malades ( sujets sécréteurs ayant le gène Le).

| Scores d'inhibition | ≤40 | 41 à 60 | 61 à 80 | ≥81 | TOTAL |
|---------------------|-----|---------|---------|-----|-------|
| Lot II              | 28  | 36      | 24      | 12  | 100   |
| Lot III             | 8   | 7       | 10      | 2   | 27    |

$$\chi^2 = 2,50$$

4°) Enfin, sécrétion de substance Lewis b, comparée chez les malades A, B, et AB des 2 séries :

| Scores d'inhibition | ≤90 | 91 à 100 | 101 à 110 | ≥111 | TOTAL |
|---------------------|-----|----------|-----------|------|-------|
| Lot II              | 17  | 12       | 7         | 5    | 41    |
| Lot III             | 10  | 6        | 5         | 6    | 27    |

$$\chi^2 = 1,42$$

Dans cette dernière comparaison, seuls les sujets non O sont retenus ( étant donné la sécrétion salivaire plus importante de Lewis b chez les sujets O par rapport aux sujets non O ) (cf. chapitre III).

Aucune comparaison ne peut être faite quant à la substance B du fait du petit nombre (3 sujets AB) de cas avec modifications antigéniques. De même, la sécrétion de substance H chez les sujets leucémiques de groupe O, avec diminution de substance H érythrocytaire, ne peut être comparée avec le lot témoin, étant donné le trop petit nombre de cas (8 au total). Cependant, dans ces 2 cas, on ne trouve pas de diminution de la sécrétion de ces substances par rapport aux valeurs théoriques.



Au total, tous les  $\chi^2$  effectués se montrent non significatifs dans les 4 comparaisons (pour 3 degrés de liberté, le  $\chi^2$  doit être supérieur à 7,8 pour être statistiquement significatif au seuil de 5 %).

## DISCUSSION

Il est maintenant prouvé que les modifications portant sur les antigènes érythrocytaires au cours des hémopathies ne sont pas dues à l'action éventuelle d'un facteur extrinsèque à la cellule. Seul un phénomène endocellulaire, propre à la cellule leucémique, peut expliquer ces anomalies de groupes sanguins, et notamment une anomalie acquise du fonctionnement génétique, dont le siège serait très proche du chromosome, voire même chromosomique. Cinq types d'arguments sont en faveur de cette théorie :

1°) On a identifié, chez le même malade de phénotype AB, des populations multiples de globules rouges, caractérisées par des anomalies apparemment indépendantes, concernant les produits des 2 allèles = hématies ayant perdu A et conservé B ou inversement (49).

2°) L'affinité de l'antigène B modifié dans un cas de leucémie aigüe, est apparue, par les méthodes thermodynamiques, analogue à celle de l'antigène B produit par le complexe génique cis AB (54).

3°) Une anomalie portant exclusivement et simultanément sur l'antigène A et sur le phénotype A K 2, dans le même clone cellulaire, a été constatée. Or, on sait que ces substances sont génétiquement déterminées par des locus liés (57).

4°) Des anomalies de l'expression phénotypique des immunoglobulines gamma G (Gm) ont été observées par de nombreux auteurs (19,51,52). Ces modifications concernent le fonctionnement de locus



poly-alléliques, s'exprimant sur des molécules d'immunoglobulines différentes (gamma  $G_1$  et gamma  $G_3$ ). C'est ainsi que l'on peut voir la diminution ou la disparition d'un haplotype complet, alors que l'autre est produit normalement. Par exemple, on a une diminution des facteurs Gm 1,17, 21, alors que les facteurs Gm 4, 5, 22 sont normaux, ou inversement.

5°) Ces anomalies sont à rapprocher des modifications des antigènes du système Rh, où l'on observe dans une partie de la population érythrocytaire la disparition des antigènes produits par l'un des 2 chromosomes, alors que l'autre semble fonctionner normalement (40).

Pour ces raisons, il nous paraît important de n'avoir pas retrouvé au niveau de la salive des anomalies des antigènes sécrétés, parallèlement aux anomalies décelées sur le globule rouge. En effet, seul un facteur extrinsèque pourrait atteindre simultanément des substances chimiquement identiques, produites par des tissus totalement différents quant à leur origine embryonnaire.

Ceci constitue à notre avis un argument supplémentaire, bien que négatif, en faveur d'une altération du fonctionnement génétique de l'érythroblaste.



CHAPITRE VI

LE SYSTEME SECRETEUR : SES RAPPORTS AVEC L'APPARITION DES  
ANTICORPS ANTI-LEWIS



Dès 1956, de nombreux auteurs (JORDAL (27), MOLLISSON (42), KISSMEYER-NIELSEN (30) ) ont rapporté l'apparition plus fréquente des anticorps anti-Lewis chez les sujets non O par rapport aux sujets O.

En outre, à la même époque, une relation entre les phénotypes salivaires et cette apparition d'anti-Lewis était notée par MILLER et Coll. (41).

Nous avons nous-mêmes effectué, au C.D.T.S., une étude semblable qui a permis de confirmer ces deux faits.

## I ) MATERIEL ET METHODES

a) Notre étude a porté sur 56 316 dépistages systématiques, effectués chez des donneurs de sang, durant une période de 3 ans (Janvier 1966 - Avril 1969).

Le sérum de chaque donneur a été systématiquement testé vis-à-vis de cinq échantillons d'hématies, de combinaisons phénotypiques variées, permettant l'identification des anticorps anti-érythrocytes les plus fréquents, correspondant aux antigènes des systèmes suivants : Rhésus, MNSs̄, P, Kell, Lewis, Duffy, Kidd et Lutheran.

Plusieurs techniques sérologiques ont été utilisées, afin de détecter le maximum d'anticorps.

Le tableau ci-dessous (N°1) donne un exemple de panel que nous avons utilisé pour une telle étude :

T A B L E A U      N° 1

|      |   |    |      |                |                               |    |           |         |         |         |
|------|---|----|------|----------------|-------------------------------|----|-----------|---------|---------|---------|
| N° 1 | O | M  | SS   | P <sub>2</sub> | rr                            | K+ | Le (a-b+) | Fy (a+) | Jk (a+) | Lu (a-) |
| N° 2 | O | N  | Ss̄  | P <sub>1</sub> | R <sub>1</sub> R <sub>1</sub> | K- | Le (a-b+) | Fy (a+) | Jk (a+) | Lu(a-)  |
| N° 3 | O | M  | s̄s̄ | P <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> R <sub>2</sub> | K- | Le (a+b-) | Fy (a-) | Jk (a+) | Lu (a-) |
| N° 4 | O | MN | s̄s̄ | P <sub>1</sub> | rr                            | K+ | Le (a-b-) | Fy (a+) | Jk (a+) | Lu (a-) |
| N° 5 | O | M  | s̄s̄ | P <sub>1</sub> | rr                            | K- | Le (a+b-) | Fy (a+) | Jk (a-) | Lu (a+) |



b) Les hématies-tests sont lavées 3 fois en soluté physiologique.

- Les 3 premiers échantillons (n° 1, 2 et 3) sont traités par la broméline et remis en suspension à 2 %, en soluté physiologique, pour la mise en évidence essentiellement des anticorps anti-Rhésus.

- L'échantillon n° 4 est dilué à 2 % en milieu albumineux ; cette technique, utilisant ce milieu albumineux, étant selon notre expérience, la meilleure pour le dépistage des anticorps du système Kell.

- Les hématies n° 5 sont mises en suspension saline à 2% , et permettent la détection des anti-Le<sup>a</sup> et anti-Le<sup>x</sup> ; cette recherche étant effectuée par la méthode du test de Coombs indirect.

- Les 4 premières séries d'échantillons (1 goutte de globules tests et 1 goutte de sérum à étudier dans des microtubes) sont mises à l'étuve à 37°C pendant 2 heures, puis lues sur plaque en ce qui concerne les 3 premières séries. La 4 ème série est lue après étalement sur lame de verre au microscope.

- La 5 ème série (2 gouttes de globules tests et 3 gouttes de sérum à étudier dans des tubes de Kahn) est mise à incuber 1 heure à 37°C, puis lavée 3 fois en saline. La recherche est faite sur plaque après avoir ajouté 1 goutte d'une antiglobuline polyvalente, de l'Institut Pasteur de Paris par exemple, à prédominance anti-C'<sub>3</sub>-C'<sub>4</sub> .

Lorsque la réaction est positive avec les globules tests n°5, le sérum est à nouveau testé, par la technique du Coombs indirect trypsiné, vis-à-vis de 6 globules tests dont 3 sont Le (a+b-), 2 Le(a-b+) et 1 Le (a-b-).

Cette méthode de Coombs indirect avec globules trypsinés permet de mettre en évidence pratiquement tous les anti-Lewis.

En cas d'association d'anticorps, une recherche complète d'agglutinines irrégulières est effectuée sur un panel de 20 hématies.

c) A l'opposé de certains anticorps (anticorps dirigés



contre les antigènes du système Rhésus, la plupart des anti-P, les anti-M et anti-N, l'anti-S ), la détection, systématique et complète, des anti-Lewis sur l'Auto-Analyser n'est pas encore réalisée.

En effet, certains anti-Le<sup>a</sup> sont détectés par cette méthode. Ils correspondent généralement à ceux qui apparaissent comme agglutinants par d'autres techniques que le test de Coombs (par exemple agglutinant les hématies trypsinées ou bromélinées).

Les anti-Le<sup>a</sup> qui ne sont détectés que par le test de Coombs indirect, ne sont généralement pas décelés par cette méthode automatique.

Le même phénomène a été observé pour les anti-Le<sup>b</sup> et les anti-Le<sup>x</sup>. Parfois, pour ces derniers, on ne décèle que l'agglutination due à la fraction anti-Le<sup>a</sup>.

Enfin, la dilution du sérum dans le circuit de l'Auto-Analyser fait que les anti-Le<sup>a</sup> hémolysants sont bien détectés, car ils n'entraînent pas d'hémolyse des globules-tests (39).

## II) RESULTATS

a) Sur 56 316 dépistages systématiques, 234 anti-Lewis ont été ainsi mis en évidence.

Le tableau n° 2 résume la répartition de ces anti-Lewis selon leur spécificité et selon le groupe sanguin ABO du sujet :

T A B L E A U N° 2

| Groupe sanguin          | A      | O      | B     | AB    | TOTAL  |
|-------------------------|--------|--------|-------|-------|--------|
| Nb de groupes testés    | 24 478 | 23 660 | 5 743 | 2 435 | 56 316 |
| Anti-Lewis <sup>a</sup> | 99     | 42     | 32    | 10    | 183    |
| Anti-Lewis <sup>b</sup> | 6      | 0      | 3     | 4     | 13     |
| Anti-Lewis <sup>x</sup> | 26     | 5      | 2     | 5     | 38     |
| Total des anti-Lewis    | 131    | 47     | 37    | 19    | 234    |



b) Simultanément, une autre série nous est parvenue, portant sur 16 580 dépistages systématiques, réunissant 105 anti-Lewis dont la répartition est la suivante (Tableau n° 3) :

T A B L E A U    N°    3

| Groupe sanguin          | A     | O     | B     | AB    | TOTAL  |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Nb de groupes testés    | 6 557 | 6 533 | 2 343 | 1 047 | 16 580 |
| Anti-Lewis <sup>a</sup> | 37    | 23    | 11    | 5     | 76     |
| Anti-Lewis <sup>b</sup> | 9     | 1     | 2     | 6     | 18     |
| Anti-Lewis <sup>x</sup> | 10    | 0     | 0     | 1     | 11     |
| Total des Anti-Lewis    | 56    | 24    | 13    | 12    | 105    |

c) Ainsi, au total, 339 anti-Lewis ont été détectés au cours de 72 896 dépistages (Tableau n° 4).

T A B L E A U    N°    4

| Groupe sanguin                                    | A      | O      | B     | AB    | TOTAL  |
|---------------------------------------------------|--------|--------|-------|-------|--------|
| Nb de groupes testés                              | 31 135 | 30 193 | 8 086 | 3 482 | 72 896 |
| % suivant le G.S.                                 | 42,7   | 41,4   | 11,1  | 4,7   | 100 %  |
| Anti-Lewis a                                      | 136    | 65     | 43    | 15    | 259    |
| % par rapport au total d' AC anti-Le <sup>a</sup> | 52,5   | 25     | 16,6  | 5,9   | 100 %  |
| Anti-Lewis b                                      | 15     | 1      | 5     | 10    | 31     |
| % par rapport au total d' AC anti-Le <sup>b</sup> | 48,3   | 3,2    | 16,1  | 32,2  | 100 %  |
| Anti-Lewis x                                      | 36     | 5      | 2     | 6     | 49     |
| % par rapport au total d'AC anti-Le <sup>x</sup>  | 73,5   | 10,2   | 4,1   | 12,2  | 100 %  |
| Total des anti-Lewis                              | 187    | 71     | 50    | 31    | 339    |
| % par rapport au total d'anti-Lewis               | 55,1   | 20,9   | 14,8  | 9,2   | 100 %  |
| % par rapport aux G.S. testés                     | 0,60   | 0,23   | 0,61  | 0,89  | 0,46%  |



d) Le phénotype salivaire a été recherché dans la deuxième série et est reproduit dans le tableau n° 5 :

T A B L E A U      N°      5

| Phénotype salivaire  | Le Se | lele Se | Le sese | lele sese | TOTAL |
|----------------------|-------|---------|---------|-----------|-------|
| Anti-Le <sup>a</sup> |       | 75      |         | 1         | 76    |
| en %                 |       | 98,6    |         | 1,3       | 100 % |
| Anti-Le <sup>b</sup> |       |         | 3       | 15        | 18    |
| en %                 |       |         | 16,6    | 83,4      | 100 % |
| Anti-Le <sup>x</sup> |       | 11      |         |           | 11    |
| en %                 |       | 100     |         |           | 100 % |

e) Des données de ces 4 tableaux, on peut conclure :

- que le pourcentage moyen d'apparition des anti-Lewis est de 0,46 % , dominé par les anti-Le<sup>a</sup> (259 anti-Lewis a pour 31 anti-Lewis b et 49 anti-Le<sup>x</sup> ) ;

- que les anticorps anti-Lewis se voient beaucoup plus fréquemment chez les sujets de groupes A, B ou AB que chez les sujets O : 79,1 % des anti-Lewis apparaissent en effet chez les sujets non O (alors que ces derniers ne représentent que 58,6 % des sujets testés ) .

Cette différence est encore plus significative pour les anti-Le<sup>b</sup> et les anti-Le<sup>x</sup> (respectivement : 96,8 % et 89,8 % chez les sujets non O). Dans la littérature, il n'a jamais été signalé d'anti-Le<sup>b</sup> chez les sujets de groupe sanguin O (48).

- qu'en dernier lieu, en considérant le phénotype salivaire, les anti-Le<sup>a</sup> apparaissent chez les sujets Le (a-b-) sécréteurs d' ABH (1 seule



exception sur les 76 exemples), les anti-Le<sup>b</sup> chez les sujets Le (a-b-) non sécréteurs d'ABH, (3 exceptions sur les 18 exemples), enfin les anti-Le<sup>x</sup> n'apparaissent que chez les sujets Le (a-b-) sécréteurs d'ABH.

En conclusion, les anti-Lewis se voient essentiellement chez les sujets de groupes sanguins A, B ou AB, et plus particulièrement :

- l'anti-Le<sup>a</sup> et l'anti-Le<sup>x</sup> chez les sujets lele Se (sujets sécréteurs, de phénotype érythrocytaire Le (a-b-),
- l'anti-Le<sup>b</sup> chez les sujets lele sese (sujets non sécréteurs, de phénotype érythrocytaire Le (a-b-)).

### III) DISCUSSION

a) Lors d'une précédente étude, effectuée au C.D.T.S. par le Pr. SALMON, 293 anticorps avaient été identifiés sur 32 252 dépistages systématiques.

Sur ces 293 anticorps, 135 (soit 46 %) avaient une spécificité anti-Lewis. Ce pourcentage d'anti-Lewis trouvés sur le nombre de dépistages correspond également au pourcentage calculé précédemment, soit 0,4 % des sujets testés.

b) Une étude identique a été faite en 1969 par WALKER et Coll. (64) chez des sujets de race noire.

Les résultats sont transcrits dans le tableau suivant (Tableau n° 6) et l'on constate également un pourcentage plus élevé d'anti-Lewis a et surtout d'anti-Le<sup>x</sup> chez les sujets non O.

T A B L E A U   N°   6

| Groupe sanguin                                        | A     | O     | B      | AB    |
|-------------------------------------------------------|-------|-------|--------|-------|
| % suivant le groupe sanguin                           | 27,6  | 49,6  | 18,6   | 4,2   |
| Répartition des 206 anti-Le <sup>a</sup> <sub>x</sub> | 31 %  | 40,8% | 23,8 % | 4,4 % |
| Répartition des 156 anti-Le <sup>b</sup>              | 36,5% | 19,9% | 34 %   | 9,6 % |



c) Une hypothèse a été émise pour expliquer ce faible pourcentage des sujets O produisant les anti-Lewis : utilisant les tests d'inhibition avec le L-Fucose, WATKINS et MORGAN (67) ont démontré l'existence d'une similitude chimique (et donc antigénique) entre la substance H et la substance  $Le^a$ . De même, LODGE et Coll. (34) ont récemment noté l'existence de réactions croisées entre l'anti- $Le^x$  d'une part, la substance H et la substance précurseur d'autre part.

Les sujets O, dont on sait qu'ils possèdent en plus grande quantité la substance H par rapport aux autres sujets, fabriqueraient moins volontiers des anticorps anti-Lewis, du fait de cette similitude antigénique entre H et Lewis a.

En outre, on sait que les quantités de substances ABH, produites par les sujets sécréteurs sont sous contrôle génétique (16) ; il se peut que les gènes Se et/ou H puissent influencer indirectement la suppression de la production d'anti- $Le^a$  chez les individus qui possèdent beaucoup de substance H.

Cette hypothèse permettrait alors d'expliquer pourquoi les sujets O font moins fréquemment d'anticorps anti- $Le^a$ .

d) Diverses hypothèses ont été également avancées pour tenter d'expliquer les relations entre le phénotype salivaire et l'apparition des diverses spécificités anti-Lewis.

L'analyse de nos résultats nous a montré que les sujets non sécréteurs (sese) ne produisent pas d'anti-Lewis a, fait qui confirme les résultats antérieurs (41, 48).

Le fait a été interprété par WALKER et Coll. (64) comme pouvant être le résultat d'une similitude chimique étroite entre la substance  $Le^a$  et la substance précurseur "XIV" qui, chez les sujets sese, est présente en grande quantité, et ce en accord avec la théorie de MORGAN, WATKINS et CEPPELLINI. BIRD (7) avait démontré, dans tous les types salivaires, l'existence d'une substance commune, appelée "substance FI" et qui est identique à un polysaccharide extrait du pneumocoque XIV, comme cela a été montré en technique d'OUCHTERLOFF, en utilisant une précipitine



extraite de *RICINUS COMMUNIS*.

Par des études quantitatives, BIRD a montré que cette quantité de "substance FI" était beaucoup plus importante dans le matériel pneumocoque XIV que dans les substances H et  $Le^a$ , et surtout dans les substances A ou B où il était trouvé en très petites quantités.

Cette similitude de macromolécules autogéniques (entre substance  $Le^a$  et substance précurseur) peut être responsable de la non-apparition d'anticorps anti- $Le^a$  chez les Le (a-b-) non sécréteurs d'ABH. Car en effet, on peut imaginer que la très grande quantité de substance de base présente dans la salive de ces sujets lele sese est responsable de la suppression anticorpale à la substance Lewis.

MILLER et Coll. (41), en effet, ont démontré que tous les sujets Le (a-b-) non sécréteurs avaient dans leur salive une quantité, si minime soit-elle, de substance Lewis a : les titres d'inhibition, avec des réactifs anti- $Le^a$ , avaient un maximum de  $1/10^0$  chez de tels sujets, alors que l'on sait que ces titres varient entre  $1/100^0$  à  $1/1000^0$  chez les sujets Le(a+b-) non sécréteurs d'ABH. Tous ces faits ont été confirmés par ANDERSEN (1) et BIANCO et ses Coll. (6).

Il est d'ailleurs vraisemblable que la très faible inhibition des anticorps anti-Lewis par les salives des sujets Le(a-b-) non sécréteurs soit due à cette communauté antigénique, c'est-à-dire une réaction croisée entre la substance  $Le^a$  et la substance précurseur.

c) Quant à l'apparition d'anti- $Le^b$  chez les sujets Le (a-b-) non sécréteurs, elle pourrait être expliquée par l'absence de toute spécificité antigénique Lewis chez ces sujets.

Toutes ces hypothèses font appel pour la plupart aux phénomènes de tolérance immunologique ; cependant, devant l'inconstance d'apparition des anticorps anti-Lewis, il est probable que des mécanismes plus complexes doivent intervenir.

f) Ainsi, dans notre étude, nous avons noté l'apparition



d'un anti-Le<sup>a</sup> chez un sujet de phénotype salivaire lele sese. Ce fait est donc exceptionnel et il n'a pas été antérieurement signalé par PETTENKOFER et HOFFBAUER (47), ces derniers ayant trouvé un anti-Le<sup>a</sup> chez un sujet Le Se, Le (a-b+).

Il en est de mêmes pour les anti-Le<sup>b</sup> chez les sujets Le sese dont nous avons trois exemples. Trois autres cas ont été antérieurement trouvés, deux par GARRATY et Coll. (22), un par GUEVIN et Coll. (25).

Quant à l'anti-Le<sup>b</sup> chez notre sujet O, de phénotype salivaire lele sese, ce fait, à notre connaissance, n'a jamais été signalé si l'on se réfère à l'observation de RACE et SANGER (48) qui disent n'avoir jamais observé d'anti-Le<sup>b</sup> chez les sujets O.



## CONCLUSION

De cette étude, plusieurs conclusions peuvent être tirées :

1°) S'il existe de nombreuses techniques pour mettre en évidence les substances de groupes salivaires, il est important de souligner que leur comparaison se limite à la présence ou non d'une substance salivaire donnée, et que, dans une étude systématique quantitative, il faut adopter une seule technique et s'y tenir.

2°) Sur le plan quantitatif :

- la sécrétion des substances salivaires varie considérablement d'un sujet à l'autre, mais elle reste sous contrôle génétique ;
- la sécrétion de substance A est identique chez les sujets  $A_1$  et  $A_2$  ;
- la quantité de substance salivaire H décroît de O vers  $A_2$ ,  $A_1$  puis B, alors que sur le globule rouge, elle décroît des sujets O vers les sujets  $A_2$ , puis B, puis  $A_1$  ;
- La quantité de Lewis a secrétée, plus importante chez les sujets Le sese par rapport aux sujets Le Se, est identique quelque soit le groupe ABO ;
- Quant à la substance Lewis b, étant donné l'emploi d'un anti-Le<sup>bH</sup> comme réactif, aucune conclusion n'est permise.

3°) L'étude de la sécrétion salivaire des substances de groupes ABH est impérative chez les sujets de phénotype A ou B faibles, indispensable pour affirmer les " $A_m$ " et les " $B_m$ ", nécessitant souvent des



systèmes révélateurs spéciaux, des réactifs de provenance connue, à des dilutions adéquates.

4°) Il n'a pas été trouvé, au niveau de la salive, des anomalies des antigènes sécrétés, parallèlement aux anomalies décelées sur le globule rouge. Ceci constitue, à notre avis, un argument supplémentaire, bien que négatif, en faveur d'une altération du fonctionnement génétique de l'érythroblaste. En effet, seul un facteur extrinsèque pourrait atteindre simultanément des substances chimiquement identiques, produites par des tissus totalement différents quant à leur origine embryonnaire.

5°) Lors des dépistages systématiques d'anticorps anti-érythrocytaires, effectués chez des donneurs de sang, les anticorps à spécificité anti-Lewis tiennent la première place par leur fréquence, représentant environ 50 % de tous les anticorps trouvés. Sur 72 896 dépistages effectués, 339 anti-Lewis ont été découverts (soit 0,46 %), dominés par les anti-Le<sup>a</sup> (259 anti-Le<sup>a</sup> pour 31 anti-Le<sup>b</sup> et 49 anti-Le<sup>x</sup>). Ces anticorps anti-Lewis se voient essentiellement chez les sujets de groupes sanguins A, B ou AB, et plus particulièrement :

- les anti-Le<sup>a</sup> et les anti-Le<sup>x</sup> chez les sujets lele Se (sujets sécréteurs, de phénotype érythrocytaire Le (a-b-),
- les anti-Le<sup>b</sup> chez les sujets lele sese (sujets non sécréteurs, de phénotype érythrocytaire Le (a-b-)).



R E F E R E N C E S

B I B L I O G R A P H I Q U E S

---

- 1 - ANDERSEN (J.)  
Serological studies on two Lewis sera.  
Acta Path. Microbio. Scand. 40 : 374-384 (1960).
- 2 - ANDERSEN (J.)  
The ABO, Secretor and Lewis Systems : some aspects of the action of the Secretor gene.  
Series Haema. Munksgaard - Copenhagen, II : 34-82 (1969).
- 3 - ANDRESEN (P.H.)  
The blood group system L. A new blood group L<sub>2</sub> . A case of epistasy within the blood groups.  
Acta Path. Microbio. Scand. 25 : 728-731 (1948).
- 4 - ANDRESEN (P.H.) & JORDAL (K.)  
An incomplete agglutinin related to the L-(Lewis) system.  
Acta Path. Microbio. Scand. 26 : 636-638 (1949).
- 5 - BAER (H.), KLOEPFER (H.W.) & RASMUSSEN (U.)  
The immunochemistry and genetics of blood group O. A study of the secretion of blood group A, B and O (H) substances in the saliva of family groups using precipitating antibody prepared in chickens.  
J. Immunol. 87 : 342-350 (1961).
- 6 - BIANCO (I.), SILVESTRONI (E.), LAWLER (S.D.), MARSHALL (R.) & SINISCALCO (M.)  
Further contributions to the study of Lewis and secretor characters.  
Vox Sang. (Basel) 5 : 337-348 (1960).
- 7 - BIRD (G.W.G.)  
Haemagglutinins in seeds.  
Brit. Med. Bull. 15 : 165-168 (1959).
- 8 - BJORKMAN (S.T.)  
Chronic refractory anemia with sideroblastic bone marrow. A study of four cases.  
Blood 11 : 250-257 (1956).



9 - BOETTCHER (B.)

Correlation between inhibition titres of blood group substances in salivas from A1, A2 and B secretors.  
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 45 : 495-506 (1967).

10 - BOYD (W.C.)

Blood groups and soluble antigens.  
In Methodology in Human Genetics : 345-415 (1960).

11 - BRENDAMOEN (O.J.)

Further studies of agglutination and inhibition in the  $Le^a - Le^b$  system.  
J. Lab. clin. Med. 36 : 335-341 (1950).

12 - BRENDAMOEN (O.J.)

Studies of agglutination and inhibition in two Lewis antibodies.  
J. Lab. clin. Med. 34 : 538-542 (1949).

13 - CAZAL (P.) & LALAURIE (M.)

Recherches sur quelques phytoagglutinines spécifiques des groupes sanguins ABO.  
Acta Haema. 8 : 73-80 (1952).

14 - CEPPELLINI (R.)

On the genetics of secretor and Lewis characters : A family study.  
Proc. 5th Int. Cong. Blood Transf. Paris : 207-211 (1955).

15 - CEPPELLINI (R.) & SINISCALCO (M.)

Una nuova ipotesi genetica per il sistema Lewis-secretore e suoi riflessi nei riguardi di alcune evidenze di linkage con altri loci.  
Rev. Ist. sieroter. ita. 30 : 431-445 (1955).

16 - CLARKE (C.A.), McCONNEL (R.B.) & SHEPPARD (P.M.)

A genetical study of the variations in ABH secretion.  
Ann. hum. Genet. 24 : 295-307 (1960).

17 - CUBONI (E.)

Sul potere antiisomoagglutinante specifico della saliva.  
Boill. Ist. sieroter. milan. 7 : 15 (1928).

18 - DREYFUS (B.), ROCHANT (H.), SALMON (Ch.), BOIVIN (P.), SULTAN (C.), MANNONI (P.), GALAND (C.) & CARTRON (J.P.)

Anémies réfractaires, états préleucémiques et anomalies enzymatiques multiples.  
C.R. Acad. Sci. (Paris) 266 : 1627, série D (1968).



- 19 - DUCOS (J.), RUFFIE (J.), MARTY (Y.), SALLES-MOURLAN (A.M.) & COLOMBIES (P.)

Does a connexion exist between blood group modifications observed in leukemia and certain chromosomal alterations ?  
Nature 203 : 432 (1964).

- 20 - FORMAGGIO (T.G.)

Speichelausscheidung von Gruppensubstanz innerhalb des ABO-Systems.  
I. Die Häufigkeit der Ausscheidung bei den vier ABO Blutgruppen.  
Z. Bakt. 159 : 135-146 - (1952).

- 21 - FURUHATA (T.), NAKAMURA (K.), NAKAJIMA (H.) & SUZUKI (M.)

Studies on the secretor (type v) and non secretor (type V) of group specific agglutinin and their inheritance.  
Proc. imp. Jap. Acad. 35 : 105-107 (1959).

- 22 - GARRATY (G.) & KLEINSCHMIDT (G.)

Two examples of anti-Le<sup>b</sup> detected in the sera of patients with the Lewis phenotype Le (a+b-).  
Vox Sang. 10 : 567-571 (1965).

- 23 - GRUBB (R.)

Correlation between Lewis blood group and secretor character in man.  
Nature (Lond.) 162 : 933 (1948).

- 24 - GRUBB (R.)

Observations on the human group system Lewis.  
Acta Path. Microbio. Scand. 28 : 61-81 (1951).

- 25 - GUEVIN (R.M.) & TALLIANO (V.)

A new example of anti-Le<sup>b</sup> antibodies in the serum of a blood donor of the Phenotype Le (a+b-).  
Un. Med. Canada 2 : 162-165 (1968).

- 26 - HARTMAN (G.)

Group Antigens in Human Organs.  
Copenhagen, Munksgaard, p. 172 (1941).

- 27 - JORDAL (K.)

The Lewis blood groups in children.  
Acta Path. Microbio. Scand. 39 : 399-406 (1956).

- 28 - KABAT (E.A.)

Blood Group Substances.  
New York, Academic Press Inc. p. 202-330 (1956).



- 29 - KAKLAMANIS (E.) & HOLBOROW (E.J.)  
 Secreter and Lewis gene frequencies in Blackfeet Indians.  
 Vox Sang. 8 : 231-234 (1963).
- 30 - KISSMEYER-NIELSEN (F.)  
 Irregular blood group antibodies in 200 000 individuals.  
 Scand. J. Haemat. 2 : 331-342 (1965).
- 31 - LANSET (S.), LIBERGE (G.), GERBAL (A.), ROPARTZ (C.) & SALMON (Ch)  
 Le phénotype  $A_{cl}$  : étude immunologique et génétique.  
 N.R.F.H. 10 : 389-399 (1970).
- 32 - LEVINE (P.), ROBINSON (E.), CELANO (M.), BRIGGS (O.) & FALKINBURG (L.)  
 Gene interaction resulting in suppression of blood group substance B.  
 Blood 10 : 1100-1108 (1955).
- 33 - LEY (A.B.), HARRIS (J.P.) & BRINKLEY (M.)  
 Alteration of erythrocyte antigen B in acute leukemia.  
 Prog. Amer. Ass. Blood Banks , p. 72 (1961).
- 34 - LODGE (T.W.), ANDERSEN (J.) & GOLD (E.R.)  
 Observations on antibodies reacting with Adult and Cord Le (a-b-) cells, with  $O_h$  Le (a-b-) cells and a soluble antigen present in certain salivas.  
 Vox Sang. 10 : 73-81 (1965).
- 35 - McCONNEL (R.B.)  
 The mecanism by which blood group antigens influence gastro-intestinal disorders.  
 Proc. Int. Cong. human Genet. 4 : 173-179 (1959).
- 36 - MACVIE (S.I.) MORTON (J.A.) & PICKLES (M.M.)  
 The relations and inheritance of a new blood group antigen  $Sd^a$  .  
 Vox Sang. 13 : 485-492 (1967).
- 37 - MAJSKY (A.) & BRADEC (V.)  
 Zur frage der Ursache von spontanen Agglutinabilitätsveränderungen des A-Erythrozytenantigens bei Kranken mit akuten Leukämien.  
 Folia Haemat. 78 : 237 (1961).
- 38 - MAKELA (O.) & MAKELA (P.)  
 $Le^b$  antigen . Studies on its occurence in red cells, plasma and saliva.  
 Ann. Med.exp. Fenn. 34 : 157-162 (1956).
- 39 - MANNONI (P.)  
 Application de méthodes d'analyses automatiques à l'immuno-hématologie et à la transfusion sanguine.  
 Thèse ; Paris (1969).



- 40 - MANNONI (P.), BRACQ (Ch.), YVART (J.) & SALMON (Ch.)  
Anomalie de fonctionnement du locus Rh au cours d'une myélofibrose.  
N.R.F.H. 10 : 381-388 (1970).
- 41 - MILLER (E.B.), ROSENFELD (R.E.), VOGEL (P.), HABER (G.) & GIBBEL (N.)  
The Lewis blood factors in American negroes.  
Amer. J. Phys. Anthrop. 12 : 427-443 (1954).
- 42 - MOLLISON (P.L.)  
Blood transfusion in clinical Medicine.  
3th Ed. Philadelphia : F.A. Davis Compagny, p. 289 (1961).
- 43 - MORGAN (W.T.J.)  
Some immunological aspects of the products of the human blood group genes.  
Biochemistry of Human Genetics, p. 194. Ciba Foundation Symposium (1959).
- 44 - MOSS (W.L.)  
Studien über Isoagglutinine und Isohämolsine.  
Folia Serol. 5 : 267 (1910).
- 45 - MOURANT (A.E.)  
A "new" human blood group antigen of frequent occurrence.  
Nature (Lond.) 158 : 237-238 (1946).
- 46 - NICHOLAS (J.W.), JENKINS (W.J.), & MARSH (W.L.)  
Human blood chimeras : A study of surviving twins.  
Brit. med. J. 1 : 1458-1460 (1957).
- 47 - PETTENKOFER (H.J.) & HOFFBAUER (H.)  
Über die Bedeutung des Lewis-Blutgruppensystems für die Entstehung eines Morbus haemolyticus neonatorum.  
Zbl. Gynäk. 76 : 576-583 (1954).
- 48 - RACE (R.R.) & SANGER (R.)  
Blood Groups in Man.  
5th Ed. Oxford & Edinburgh, Blackwell (1968).
- 49 - RENTON (PH.), STRATTON (F.), GUNSON (H.H.) & HANCOCK (J.A.)  
Red cells of all four ABO groups in a case of leukaemia.  
Brit. med. J. 1 : 294 (1962).
- 50 - REVIRON (J.), SALMON (Ch.), SALMON (D.), DELARUE (F.) & SCHENMETZLER (C.)  
Transmission, probablement par un seul chromosome, d'un phénotype A<sub>1</sub>B inhabituel avec agglutinine anti-B.  
VI<sup>e</sup> Cong. Nat. Transf. Sang. Tours (1966).



- 51 - RIVAT (L.), ROPARTZ (C.), LEBRETON (J.P.), MANNONI (P.), DELARUE (F.), GERBAL (A.), SALMON (Ch.), REVIRON (J.) & ROCHANT (H.)  
Modifications de l'expression allotypique des immunoglobulines au cours de certaines hémopathies.  
N.R.F.H., 10 : 371 (1970).
- 52 - ROPARTZ (C.), ANDRAN (R.), RIVAT (L.), ROUSSEAU (P.Y.) & FINE (J.M.)  
Leucoses et groupes de gamma-globulines Gm et Inv.  
Vox Sang. (Basel) 8 : 627 (1963).
- 53 - SALMON (CH.), DREYFUS (B.) & ANDRE (R.)  
Double population de globules, différant seulement par l'antigène de groupe ABO, observée chez un malade leucémique.  
Rev. Hémat. 13 : 148 (1958).
- 54 - SALMON (Ch.), JACQUET (A.), KLING (C.) & SALMON (D.)  
Analogie d'affinité entre un antigène B modifié par la leucémie chez un sujet A<sub>1</sub>B et un antigène partiel induit par un chromosome cis A<sub>1</sub>B.  
N.R.F.H. 7 : 755 (1967).
- 55 - SALMON (Ch.), ROCHANT (H.), MANNONI (P.), CARTRON (J.P.), JACQUET (A.) LIBERGE (G.) & DREYFUS (B.)  
Etude des modifications des antigènes de groupes sanguins dans 11 cas d'anémies réfractaires.  
N.R.F.H. 9 : 113 (1969).
- 56 - SALMON (Ch.) & SALMON (D.)  
Déficit en antigène H chez certains sujets de groupe O atteints de leucémie aigüe.  
Rev. Fr. Et. clin. biol. 10 : 212 (1965).
- 57 - SALMON (Ch.), SEGER (J.), MANNONI (P.), BAHNO-DUCHERY (J.) & LIBERGE (G.)  
Une population d'érythrocytes avec anomalie simultanée des phénotypes induits par les gènes des locus ABO et adénylate kinase.  
Rev. Fr. Et. clin. biol. 13 : 296 (1968).
- 58 - SCHMIDT (P.J.), BARILLE (M.R.), & MCGINNIS (M.H.)  
Mycoplasma (pleuropneumonia-like organisms) and blood group I ; associations with neoplastic disease.  
Nature 205 : 371 (1965).
- 59 - SNEATH (J.S.) & SNEATH (P.H.A.)  
Transformation of the Lewis groups of human red cells.  
Nature (Lond.) 176 : 172 (1955).
- 60 - STRATTON (F.), RENTON (P.H.) & HANCOCK (J.A.)  
Red cell agglutinability affected by disease.  
Nature (Lond.) 181 : 62 (1958).



- 61 - TEGOLI (J.), SANDERS (C.W.), HARRIS (J.P.) & ISSITT (P.D.)  
Unusual suppression of secretion of blood group substance A<sub>1</sub>.  
Vox Sang. 13 : 285-287 (1967).
- 62 - TOVEY (G.H.)  
Changes in the group A antigen in leukaemia.  
Proc. 7th Cong. Europ. Soc. Haemat. (Lond.), Karger 2 : 1167 (1960).
- 63 - VAN LOGHEM (J.J.), DORFMEIER (H.) & VAN DER HART (M.)  
Two A antigens with abnormal serologic properties.  
Vox Sang. 2 : 16 (1957).
- 64 - WALKER (R.H.), GRIFFIN (L.D.) & KASHGARIAN (M.)  
The distribution of the ABO blood groups in persons with Lewis anti-  
bodies.  
Amer. J. of Clin. Patho. 51 : 3-8 (1969).
- 65 - WATKINS (W.M.)  
Relationship between structure, specificity and genes within the ABO  
and Lewis blood-group systems.  
Proc. 10th Congr. Int. Soc. Blood Transf., Stockholm, p. 443 (1965).
- 66 - WATKINS (W.M.)  
Blood group substances. In the ABO system the genes control the arran-  
gement of sugar residues that determines blood-group specificity.  
Science 152 : 172-181 (1966).
- 67 - WATKINS (W.M.) & MORGAN (W.T.J.)  
Specific inhibition studies relating to the Lewis blood group system.  
Nature (Lond.) 180 : 1038-1040 (1957).
- 68 - WATKINS (W.M.) & MORGAN (W.T.J.)  
Possible genetical pathways for the biosynthesis of blood group mucopo-  
lysaccharides.  
Vox Sang. (Basel) 4 : 97-119 (1959).
- 69 - WEINER (W.), LEWIS (H.B.M.), MOORES (Ph.), SANGER (R.) & RACE (R.R.)  
A gene y modifying the blood group antigen A.  
Vox sang. 2 : 25-37 (1957).
- 70 - WIENER (A.S.) & GORDON (E.B.)  
A hitherto undescribed human blood group A<sub>m</sub>.  
Brit. J. Haemat. 2 : 305 (1956).
- 71 - ZAHLER (P.)  
Blood group antigen in relation to chemical and structural properties  
of the Red cell membrane.  
Vox Sang. 15 : 94 (1968).



Vu, le Président de Thèse

Pr. Bernard DREYFUS

Vu, le Doyen de la Faculté

Pr. G. BROUET

Vu et Permis d'Imprimer  
Le Recteur de l'Académie de Paris

R. MALLET





